



HAL
open science

Intérêt des marqueurs sériques de mort cellulaire dans le spectre des stéatopathies métaboliques chez les obèses morbides

Stéphanie Patouraux

► To cite this version:

Stéphanie Patouraux. Intérêt des marqueurs sériques de mort cellulaire dans le spectre des stéatopathies métaboliques chez les obèses morbides. Médecine humaine et pathologie. 2013. dumas-01005919

HAL Id: dumas-01005919

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01005919>

Submitted on 13 Jun 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Stéphanie PATOURAUX

Interne des Hôpitaux

**INTERET DES MARQUEURS SERIQUES DE MORT CELLULAIRE
DANS LE SPECTRE DES STEATOPATHIES METABOLIQUES
CHEZ LES OBESES MORBIDES**

NICE 2013

UNIVERSITE DE NICE SOPHIA-ANTIPOLIS

FACULTE DE MEDECINE

**Intérêt des marqueurs sériques de mort cellulaire
dans le spectre des stéatopathies métaboliques
chez les obèses morbides**

THESE

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine de Nice

Le 8 Octobre 2013

Par

Stéphanie PATOURAUX

Née le 16 Juin 1981 à Nice

Pour obtenir le titre de Docteur en Médecine

(Diplôme d'Etat)

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Jean-François MICHIELS Président du Jury

Monsieur le Professeur Albert TRAN Assesseur

Monsieur le Professeur Antonio IANNELLI Assesseur

Monsieur le Docteur Philippe GUAL Assesseur

Madame le Docteur Marie-Christine SAINT-PAUL co-Directeur de thèse

Monsieur le Docteur Rodolphe ANTY co-Directeur de Thèse

UNIVERSITÉ DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS

FACULTÉ DE MÉDECINE

Liste des professeurs au **1er septembre 2013** à la Faculté de Médecine de Nice

Doyen	M. BAQUÉ Patrick
Assesseurs	M. BOILEAU Pascal M. HÉBUTERNE Xavier M. LEVRAUT Jacques
Conservateur de la bibliothèque	M. SCALABRE Grégory
Chef des services administratifs	Mme CALLEA Isabelle
Doyens Honoraires	M. AYRAUD Noël M. RAMPAL Patrick M. BENCHIMOL Daniel

Professeurs Honoraires

M. BALAS Daniel
M. BLAIVE Bruno
M. BOQUET Patrice
M. BOURGEON André
M. BOUTTÉ Patrick
M. BRUNETON Jean-Noël
Mme BUSSIERE Françoise
M. CHATEL Marcel
M. COUSSEMENT Alain
M. DARCOURT Guy
M. DELMONT Jean
M. DEMARD François
M. DOLISI Claude
M. FREYCHET Pierre
M. GÉRARD Jean-Pierre
M. GILLET Jean-Yves
M. GRELLIER Patrick
M. HARTER Michel
M. INGLESAKIS Jean-André
M. LALANNE Claude-Michel
M. LAMBERT Jean-Claude
M. LAPALUS Philippe
M. LAZDUNSKI Michel
M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. LE BAS Pierre
M. LE FICHOUX Yves
M. LOUBIERE Robert
M. MARIANI Roger
M. MASSEYEFF René
M. MATTEI Mathieu
M. MOUIEL Jean
Mme MYQUEL Martine
M. OLLIER Amédée
M. ORTONNE Jean-Paul
M. SCHNEIDER Maurice
M. SERRES Jean-Jacques
M. TOUBOL Jacques
M. TRAN Dinh Khiem
M. ZIEGLER Gérard

M.C.A. Honoraire

Mlle ALLINE Madeleine

M.C.U. Honoraires

M. ARNOLD Jacques
 M. BASTERIS Bernard
 Mlle CHICHMANIAN Rose-Marie
 M. EMILIOZZI Roméo
 M. GASTAUD Marcel
 M. GIRARD-PIPAU Fernand
 M. GIUDICELLI Jean
 M. MAGNÉ Jacques
 Mme MEMRAN Nadine
 M. MENGUAL Raymond
 M. POIRÉE Jean-Claude
 Mme ROURE Marie-Claire

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	AMIEL Jean	Urologie (52.04)
M.	BENCHIMOL Daniel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	CAMOUS Jean-Pierre	Thérapeutique (48.04)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	DELLAMONICA Pierre	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	DESNUELLE Claude	Biologie Cellulaire (44.03)
Mme	EULLER-ZIEGLER Liana	Rhumatologie (50.01)
M.	FENICHEL Patrick	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FRANCO Alain	Gériatrie et Biologie du vieillissement (53.01)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	GASTAUD Pierre	Ophthalmologie (55.02)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GRIMAUD Dominique	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénérologie (50.03)
Mme	LEBRETON Élisabeth	Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique (50.04)
M.	MICHIELS Jean-François	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	PRINGUEY Dominique	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	SANTINI Joseph	O.R.L. (55.01)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	VAN OBBERGHEN Emmanuel	Biochimie et Biologie Moléculaire (44.01)

PROFESSEURS PREMIERE CLASSE

M.	BATT Michel	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
Mme	CRENESSE Dominique	Physiologie (44.02)
M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52.03)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)
M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
Mme	ICHAÏ Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)

M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
M.	MARTY Pierre	Parasitologie et Mycologie (45.02)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	MOUROUX Jérôme	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
Mme	RAYNAUD Dominique	Hématologie (47.01)
M.	ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	ROSENTHAL Éric	Médecine Interne (53.01)
M.	SCHNEIDER Stéphane	Nutrition (44.04)
M.	TRAN Albert	Hépatogastro-entérologie (52.01)

PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE

M.	ALBERTINI Marc	Pédiatrie (54.01)
Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BENIZRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54.02)
Mlle	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CANIVET Bertrand	Médecine Interne (53.01)
M.	CARLES Michel	Anesthésiologie Réanimation (48.01)
M.	CASSUTO Jill-Patrice	Hématologie et Transfusion (47.01)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	DUMONTIER Christian	Chirurgie plastique
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48.04)
M.	FREDENRICH Alexandre	Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques (54.04)
Mlle	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Gériatrie (48.04)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	JOURDAN Jacques	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	LEVRAUT Jacques	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénérologie (50.03)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	ROGER Pierre-Marie	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)
M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
M.	STACCINI Pascal	Biostatistiques et Informatique Médicale (46.04)
M.	THOMAS Pierre	Neurologie (49.01)
M.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	VENISSAC Nicolas	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

M.	SAUTRON Jean-Baptiste	Médecine Générale
----	-----------------------	-------------------

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ALUNNI-PERRET Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
-----	-------------------------	--

M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENOLIEL José	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
Mme	BUREL-VANDENBOS Fanny	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
M.	DOGLIO Alain	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	DONZEAU Michèle	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FOSSE Thierry	Bactériologie-Virologie-Hygiène (45.01)
M.	FRANKEN Philippe	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	GARRAFFO Rodolphe	Pharmacologie Fondamentale (48.03)
Mme	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
Mlle	LANDRAUD Luce	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	LEGROS Laurence	Hématologie et Transfusion (47.01)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
M.	PHILIP Patrick	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
Mlle	PULCINI Céline	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROUX Christian	Rhumatologie (50.01)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)

PROFESSEURS ASSOCIÉS

M.	DIOMANDE Mohenou Isidore	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	HOFLIGER Philippe	Médecine Générale
M.	MAKRIS Démosthènes	Pneumologie
M.	PITTET Jean-François	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
Mme	POURRAT Isabelle	Médecine Générale

MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Mme	CHATTI Kaouthar	Biophysique et Médecine Nucléaire
M.	GARDON Gilles	Médecine Générale
Mme	MONNIER Brigitte	Médecine Générale
M.	PAPA Michel	Médecine Générale

PROFESSEURS CONVENTIONNÉS DE L'UNIVERSITÉ

M.	BERTRAND François	Médecine Interne
M.	BROCKER Patrice	Médecine Interne Option Gériatrie
M.	CHEVALLIER Daniel	Urologie
Mme	FOURNIER-MEHOUAS Manuella	Médecine Physique et Réadaptation
M.	MAGNÉ Jacques	Biophysique
M.	QUARANTA Jean-François	Santé Publique

Aux membres du jury

A Monsieur le Professeur MICHIELS

C'est un grand honneur que vous me faites en acceptant d'être le président du jury de ma thèse. Je vous suis très reconnaissante de m'avoir accueillie dans votre équipe lors de mon internat et je vous remercie également de m'avoir fait partager votre érudition et votre passion pour l'anatomopathologie. J'espère sincèrement avoir été digne de votre enseignement

A Monsieur le Professeur Albert TRAN

Solliciter vos compétences et votre expérience pour juger ce travail m'est apparu comme une évidence. Soyez assuré de toute mon estime et de mon profond respect pour votre travail

A Monsieur Professeur Antonio IANNELLI

Vous me faites l'honneur de juger ce travail et de parfaire le jury de cette thèse, soyez assuré de ma gratitude pour avoir accepté

A Monsieur le Docteur Philippe GUAL

Je te remercie pour ta disponibilité, ton accueil au sein de l'équipe 8 du C3M, et pour tout ce que tu m'as appris au cours de ces quatre dernières années. Tu m'as permis de faire le lien entre ma discipline et une approche plus fondamentale de la pathologie hépatique. Je te remercie de faire partie de mon jury de thèse, et d'avoir contribué à ce travail

A Madame le Docteur Marie-Christine SAINT-PAUL

Je vous remercie de m'avoir aidé à mener à bien ce travail, mais également de m'avoir fait partager votre immense savoir. Tout au long de ma formation, vous m'avez guidé et conseillé tant sur le plan professionnel que personnel, je tacherai d'être à la hauteur de la confiance que vous m'avez accordée

A Monsieur le Docteur Rodolphe ANTY

Je te remercie d'avoir accepté d'être co-directeur de cette thèse. Ton implication, ta rigueur, ta méthodologie m'ont été d'une grande aide dans la réalisation de ce travail. Tu as su être disponible pour moi et ce malgré ton départ pour Newcastle

A mes proches,

A mes parents,

Pour leur soutien indéfectible, leur capacité d'écoute, leur talent culinaire, et tellement plus, merci

A Amandine,

Pour ta bonne humeur parsemée d'opérations coup de poing hormono-dépendantes... et pour avoir toujours été là pour moi

A Nicolas,

Je suis si fière de ce que tu fais, et j'admire ton talent, merci d'être là

A Anne,

Tu es plus qu'une amie, on a muri ensemble (pour ne pas dire vieillir). Au long de toutes ces années, ton soutien, ton humour, et ton succès aux noisettes (le seul, l'unique) me sont devenus indispensables

A Léopold,

Pour moi tu as l'immunité, qu'importent les allergies

A Paola,

Qui porte si bien son nom, et qui m'a permis des instants de détente pendant cet été difficile

A Nedra et Amine,

Pour tous les fous rires qu'on a partagés, choukran beaucoup

A Charles-Henri,

Tu as su m'offrir des moments précieux, des moments de rires et de réconfort

Tu m'as soutenu et supporté tout au long de cette thèse et plus encore

Pour ta patience et ta compréhension, des milliards de merci

Aux médecins qui ont contribué à ma formation,

A Anne,

Pour ton enseignement et ta disponibilité à mes débuts

A Nathalie,

Pour avoir partagé tes connaissances, pour ton aide dans le travail et en dehors, et bien sûr pour ta bonne humeur et ton humour

A Fanny,

Pour ton humanité et ta rigueur, un exemple à suivre

A Marjorie,

Merci d'avoir initié ma formation

A Damien,

Pour ta disponibilité, pour les internes, ta porte était toujours toute verte

A Maxime,

Pour tes conseils, ta simplicité, et ta gentillesse

A Mickael Coutts,

Qui nous a offert un enseignement de qualité et permis d'améliorer notre anglais

A Agnès Rampal,

Pour avoir contribué à ma formation

A Christophe Perrin

Aux médecins du CAL,

Au Docteur Francette Ettore,

Votre profonde connaissance de l'anatomopathologie m'a aidé à apprendre mon métier

A Isabelle,

Pour ta confiance, qui m'a fait gagner en autonomie

A Anne,

Pour ton enseignement chaleureux

A Juliette,

Ce fut très agréable de travailler avec toi, le partage de ton savoir et de ta gentillesse a été très enrichissant pour moi

A Myriam,

Tu m'as énormément appris en peu de temps, merci pour ta disponibilité et tes qualités d'enseignement

Aux médecins du LPCE, pour avoir participé à ma formation

A mes co-internes,

A Bérengère,

Tu excelles dans tous les domaines, mais surtout dans la découverte des spécialités régionales, j'ai hâte de poursuivre notre tour de France culinaire

A Sophie,

Pour ton rire communicatif qui donne l'agréable illusion d'être drôle, et surtout pour tes compétences et ton aide pendant ce semestre, où tu as assuré me permettant sans complexe de passer plus de temps sur ma thèse

A Nouran,

Pour ta gentillesse et toute l'aide que tu m'as apportée comme ces mètres carrés de peau prélevés et ces kilomètres de fautes d'anglais que tu as corrigées, toujours dans la bonne humeur

A Zoé,

Merci pour ces moments partagés pendant la dernière ligne droite, tu es revenue à temps, et j'ai hâte de partager d'autres moments au labo et en dehors, pour rattraper le retard lié à un heureux événement

A Caroline,

Nous vivons ensemble ces derniers moments d'internat, je te souhaite bon courage pour ta thèse prochaine

A Julie,

Nouvelle venue dans la famille d'anapath, merci pour ta gaieté et de défendre nos intérêts avec passion

A Julien,

Seul garçon parmi nous toutes, merci d'apporter ton point de vue masculin à nos discussions

A toutes les équipes techniques et tout le personnel des laboratoires d'anatomie et cytologie pathologique de Pasteur, l'Archet et du CAL pour votre humanité et votre professionnalisme qui rendent cette spécialité encore plus agréable.

A toute l'équipe 8 du C3M, et plus particulièrement aux drôles de dames,

Béatrice, dont l'esprit scientifique et la douceur rendent le travail si agréable,

Déborah, dont les qualités de pédagogues et la bonne humeur ont rendus les heures passées à l'animalerie si plaisantes,

Stéphanie, dont la rigueur scientifique et la gentillesse m'ont permis de m'épanouir

Vanessa, pour tous ces bons moments partagés

Anne Sophie, pour ton soutien et ton aide dans la réalisation de ces thèses, je sais que je peux compter sur toi, et saches que c'est réciproque

TABLE DES MATIERES

I INTRODUCTION	3
II LES STEATOPATHIES METABOLIQUES	5
II.1 Définition et épidémiologie	5
II.1.1 L'obésité	5
II.1.2 Le syndrome métabolique	7
II.1.3 Les stéatopathies métaboliques	9
II.2 Physiopathologie	9
II.2.1 Physiopathologie de l'obésité	9
II.2.2 Physiopathologie de l'insulino-résistance	10
II.2.3 Physiopathologie des stéatopathies métaboliques	12
II.3 Aspects histopathologiques	14
II.4 Méthodes diagnostiques non invasives	20
II.4.1 Identification et quantification de la stéatose	20
II.4.2 Prédiction de la NASH	20
II.4.3 Quantification de la fibrose	22
III MATERIELS ET METHODES	27
III.1 Patients et recueil des données	27
III.2 Étude anatomopathologique des biopsies hépatiques	28
III.3 Dosages sériques	29
III.4 Analyses statistiques	30
IV RESULTATS	32
IV.1 Stéatopathies métaboliques : Analyse histologique et recherche de marqueurs clinico-biologiques sur 857 obèses morbides	32
IV-1-1 Description de la cohorte de 857 obèses morbides	32
IV-1-2 Recherche de marqueurs diagnostiques parmi les paramètres sériques dosables en routine	37
IV.2 Stéatopathies métaboliques : Analyse histologique et recherche de marqueurs clinico-biologiques et de marqueurs de mort sur 362 obèses morbides	40
IV-2-1 Description de la cohorte de 362 obèses morbides	40
IV-2-2 Recherche de marqueurs diagnostiques parmi les paramètres sériques dosables en routine et les marqueurs sériques de mort	45
IV.3 Analyse selon le degré de stéatose de la valeur des marqueurs clinico-biologiques et des marqueurs sériques de mort	47

IV-3-1 Valeurs de l'ALAT, l'HOMA-IR et des marqueurs sériques de mort selon le grade de stéatose	47
IV-3-2 Corrélation selon le grade de stéatose.....	48
IV-3-3 Valeurs de l'ALAT, l'HOMA-IR et des marqueurs sériques de mort pour un même grade de stéatose selon la présence ou non de NASH.....	51
IV.4 Elaboration et analyse de modèles diagnostiques de NASH	53
V DISCUSSION	54
V.1 Principaux résultats	55
V.2 Patients obèses morbides métaboliquement sains.....	56
V.3 Recherche de marqueurs diagnostiques de NASH	58
V.4 Rôle de la stéatose dans l'évaluation des stéatopathies métaboliques.....	60
V.5 Proposition de nouveaux modèles diagnostiques de NASH	63
VI CONCLUSION	65
ANNEXES.....	66
BIBLIOGRAPHIE	70

I INTRODUCTION

Actuellement, les stéatopathies métaboliques sont la cause la plus fréquente d'hépatopathie chronique en France et dans les pays occidentaux. Les stéatopathies métaboliques sont une manifestation hépatique du syndrome métabolique. Elles sont associées à l'obésité viscérale et à la résistance à l'insuline.

Le terme de stéatopathies hépatiques non alcooliques (Non Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) est également utilisé, soulignant les similitudes histologiques avec les lésions observées dans les stéatopathies d'origine alcoolique.

Les stéatopathies métaboliques regroupent la stéatose hépatique simple, sans inflammation, ni souffrance cellulaire, et la stéatohépatite non alcoolique (Non Alcoholic Steatohepatitis ou NASH), associant à la stéatose une inflammation et une souffrance cellulaire.

Ces deux formes peuvent s'accompagner ou non de fibrose. La distinction entre ces deux états est essentielle. La stéatose est considérée comme bénigne et réversible, alors que la stéatohépatite serait associée à une évolution pathologique grave. La stéatohépatite est associée à une diminution de la survie globale et favorise le développement de la fibrose. Celle-ci peut évoluer jusqu'au stade de cirrhose, exposant alors le foie cirrhotique à la survenue d'un hépatocarcinome. Des cas d'hépatocarcinomes développés sur foie non cirrhotique ont également été décrits. Un mécanisme de carcinogenèse particulier serait impliqué dans la survenue de ces hépatocarcinomes lors des stéatopathies métaboliques sans cirrhose [1].

Le diagnostic de NASH constitue donc un enjeu important dans la prise en charge des stéatopathies métaboliques. La méthode de référence pour diagnostiquer la NASH reste la biopsie hépatique. Devant la prévalence croissante de ces lésions, de nombreuses études ont été entreprises et plusieurs scores clinico-biologiques proposés. Il n'existe cependant pas de score idéal pour le diagnostic de la NASH.

Le dosage de l'activité de l'alanine amino transférase (ALAT) sérique est un test effectué en routine, reflétant une souffrance hépatocytaire dans plusieurs hépatopathies chroniques, et est un paramètre utilisé dans plusieurs scores biologiques ayant pour but de diagnostiquer la NASH.

Récemment, des marqueurs sériques de mort cellulaire ont été identifiés comme potentiels marqueurs de la NASH. Ces marqueurs sériques permettent de quantifier les différents types de mort cellulaire : l'apoptose et nécrose.

L'objectif de ce travail était d'évaluer la performance diagnostique de ces marqueurs sériques de mort cellulaire dans le spectre des stéatopathies métaboliques, et plus particulièrement dans le diagnostic de NASH.

II LES STEATOPATHIES METABOLIQUES

II.1 Définition et épidémiologie

L'histoire naturelle des stéatopathies métaboliques n'est pas clairement établie, mais ses principaux facteurs de risque sont bien identifiés. L'obésité, en particulier l'adiposité viscérale et la résistance à l'insuline, éléments constitutifs du syndrome métabolique sont la première cause de stéatopathies métaboliques.

II.1.1 L'obésité

L'obésité est définie selon l'Organisation mondiale de la santé par un indice de masse corporelle (IMC), supérieur à 30. L'obésité morbide est définie par un IMC supérieur à 40. L'IMC est calculé par le rapport du poids (kg) sur la taille au carré (m²). L'IMC normal est entre 20 et 25, un IMC supérieur à 25 signe le surpoids.

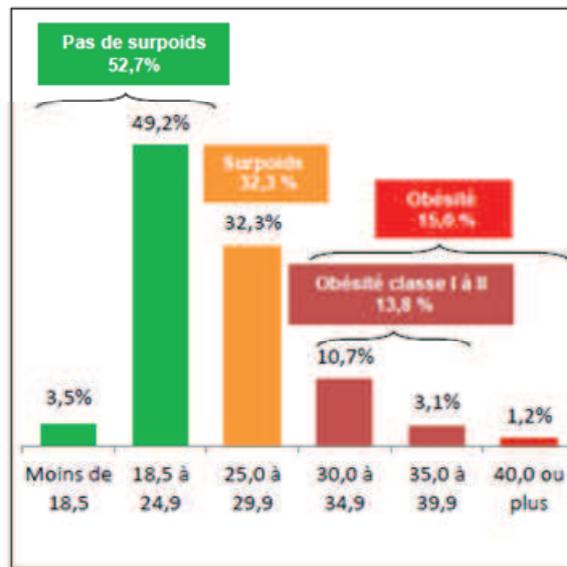
On distingue l'obésité androïde, centrale ou viscérale, où la distribution des graisses est principalement abdominale, et l'obésité gynoïde. Alors que la première est associée au syndrome métabolique, la seconde ne se complique que rarement d'insulino-résistance et de maladies cardio-vasculaires.

L'augmentation de la prévalence de l'obésité dans le monde en fait un problème majeur de santé publique. Selon un rapport de l'OMS de 2008, le nombre de cas d'obésité a doublé depuis 1980, 35% de la population mondiale est en surpoids et 11% est obèse.

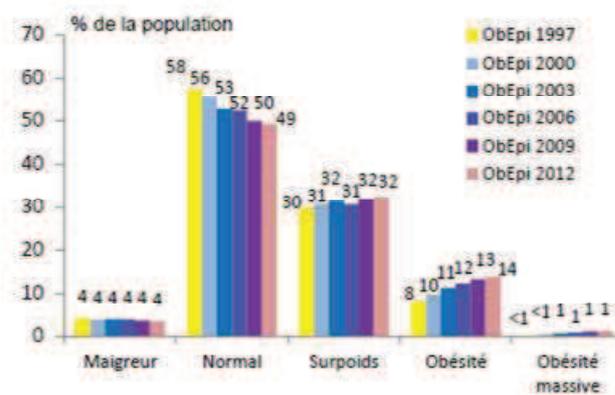
En France, l'enquête Obépi de 2012 rapporte 32,3% de cas de surpoids et 15% de cas d'obésité dont 1,2% d'obèses morbides chez des sujets de plus de 18 ans.

Les différentes études Obépi réalisées depuis 1997 permettent d'observer une augmentation progressive de la prévalence de l'obésité en France. Néanmoins, l'augmentation relative de 3,4% du nombre de personnes obèses au cours des trois dernières années est significativement inférieure aux années précédentes (Figure 1).

Figure 1: Répartition de la population en fonction du niveau d'IMC selon le rapport Obépi 2012



Répartition de la population en fonction du niveau d'IMC en 2012



Répartition de la population en fonction du niveau d'IMC depuis 1997

II.1.2 Le syndrome métabolique

Le syndrome métabolique regroupe des anomalies du bilan glucidique, lipidique, l'hypertension artérielle et l'obésité. Plusieurs définitions sont proposées selon les organisations (Tableau I). Selon le consensus actuel, la présence de trois facteurs parmi l'obésité viscérale, l'hyperglycémie, l'hypertriglycéridémie, le faible taux d'HDL-cholestérol et l'hypertension artérielle définit un syndrome métabolique [2]. L'existence de ce syndrome prédispose à la survenue d'un diabète de type II et au développement de maladies cardio-vasculaires. L'obésité et la sédentarité sont des facteurs qui prédisposent au syndrome métabolique.

La prévalence du syndrome métabolique est complexe à définir, car elle varie selon l'âge, le genre, l'ethnie et la définition utilisée. Dans la population américaine, la prévalence du syndrome métabolique varie de 35 à 39% selon la définition du NCEP ATP III ou de l'IDF [3]. En France, la prévalence du syndrome métabolique défini selon le NCEP ATP III est de 10% chez les hommes et 7% chez les femmes [4].

Tableau I: Définitions du syndrome métabolique

OMS 1999	EGIR 1999	FID 2005	NCEP ATP III 2001
CONDITION OBLIGATOIRE			
Intolérance au glucose ou insulino-résistance ou diabète de type 2	Hyper insulinémie (non diabétique)	Obésité abdominale	Aucune
+ 2 parmi			3 parmi
OBESITE			
IMC > 30 kg/m ² ou T/H : > 0,9 (H) et 0,85 (F)	Tour de taille : ≥ 94 cm (H) ≥ 80 cm (F)	Condition obligatoire (tour de taille selon origine ethnique et sexe)	Tour de taille : ≥ 102 cm (H) ≥ 88 cm (F)
HYPERTENSION ARTERIELLE			
Pression artérielle ≥ 140/90mmHg ou traitement	Pression artérielle ≥ 140/90mmHg ou traitement	Pression artérielle Systolique ≥ 130 mmHg Diastolique ≥ 85mmHg ou traitement	Pression artérielle ≥ 130/85mmHg ou traitement
DYSLIPIDEMIE			
HDL-C < 0,9 mmol/l (H) < 1 mmol/l (F) ou TG > 1,7 mmol/l	HDL-C < 1 mmol/l ou TG > 2 mmol/l	HDL-C < 1,3 mmol/l (H) < 1,29 mmol/l (F) ou traitement Et TG > 1,7 mmol/l ou traitement	HDL-C < 1,3 mmol/l (H) < 1,29 mmol/l (F) Et TG > 1,7 mmol/l
AUTRES			
MICROALBUMINURIE Taux d'excrétion urinaire > 20µg/min ou albumine/créatine >30mg/g	HYPERGLYCEMIE à jeun ≥ 110 mg/dl	HYPERGLYCEMIE à jeun ≥ 100 mg/dl ou diabète de type 2	HYPERGLYCEMIE à jeun ≥ 110 mg/dl

OMS = Organisation Mondiale de la Santé ; EGIR = European Group for the Study of Insulin Resistance ; NCEP ATP III= National Cholesterol Education Program Third Adult Treatment Panel ; FID = Fédération Internationale du Diabète, H = Homme, F= Femme ; HDL -C = High Density Lipoprotein-Cholestérol ; TG = Triglycérides

II.1.3 Les stéatopathies métaboliques

Les stéatopathies métaboliques sont définies par un ensemble de manifestations hépatiques associées à l'obésité et l'insulino-résistance. Elles sont caractérisées par une surcharge graisseuse hépatique dont le spectre va de la stéatose à la stéatohépatite, évoluant vers la fibrose, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. Elles peuvent être désignées par le terme NAFLD, ou Non Alcoholic Fatty Liver Disease (foie gras non alcoolique), ses caractéristiques histopathologiques étant identiques à celles observées lors des hépatites alcooliques.

Il est actuellement admis que les stéatopathies métaboliques sont une manifestation hépatique du syndrome métabolique. Si leur prévalence est de 20 à 30% dans la population générale [5],[6], 28 à 55% des patients diabétiques, 27 à 92 % des patients ayant une hyperlipidémie, et 60 à 95% des obèses présentent une stéatopathie métabolique [7]. Une sous population particulière est représentée par les obèses morbides. Chez ces patients, la prévalence des stéatopathies métaboliques atteint 90%, et le stade de stéatohépatite toucherait jusqu'à 37% des patients [8], alors que dans la population générale, la prévalence de la stéatohépatite serait de 2 à 3%.

II.2 Physiopathologie

II.2.1 Physiopathologie de l'obésité

L'obésité résulte d'un déséquilibre entre l'apport énergétique et les dépenses énergétiques. Dans de rares cas, l'obésité est due à une modification génétique identifiée. Une mutation de gène de la leptine ou de son récepteur [9], une mutation du récepteur de la mélanocortine[10] ou du gène du récepteur de la cholécystokinine[11] sont alors responsables d'une prise alimentaire excessive. Plus récemment, le rôle de la flore intestinale a été mis en évidence. La composition du microbiote intestinal serait unique chez chaque individu, avec un ensemble de bactéries communes à tous les individus. Cette flore intestinale serait influencée par des facteurs génétiques, l'alimentation, ou un traitement (antibiotiques, gastric by pass). Le microbiote modifierait l'immunité et le métabolisme de l'hôte, en modulant

l'adiposité, la sensibilité à l'insuline, et l'inflammation de bas grade qui leur sont associées. Ce système microbien jouerait un rôle sur la perméabilité intestinale, en permettant la translocation de lipopolysaccharides (LPS) dans le sang, appelée aussi endotoxémie métabolique [12].

Mais c'est surtout l'évolution du mode de vie, avec une prise alimentaire excessive par rapport à une activité physique décroissante qui est principalement rapportée comme responsable du maintien du déséquilibre entre apport et dépense énergétique. L'évaluation de ces paramètres reste complexe. Une plus grande consommation de boissons sucrées et une augmentation de la taille des portions alimentaires sont rapportées [13]. La diminution de l'activité physique est liée aux transports ou aux occupations domestiques plus sédentaires [14], [15].

II.2.2 Physiopathologie de l'insulino-résistance

L'insulino-résistance est définie par une réduction ou un défaut d'action de l'insuline sur ses tissus cibles : muscle, tissu adipeux et foie. Elle comprend plusieurs degrés de sévérité, allant de l'intolérance au glucose au diabète de type II. Elle est quantifiée selon l'HOMA IR, « homeostatic model assessment », calculé par le taux de glucose et d'insuline. L'insulino-résistance est le facteur constitutif du syndrome métabolique.

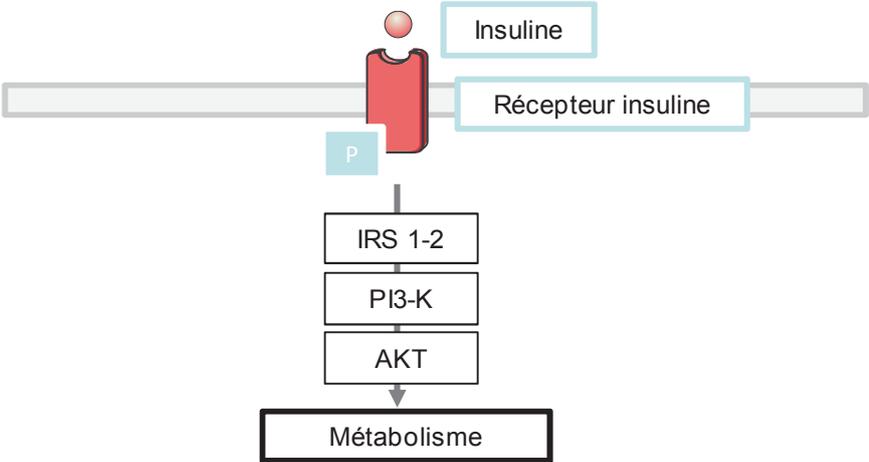
Chez les individus sains, la fixation de la molécule d'insuline sur son récepteur, situé au niveau de la membrane cellulaire, entraîne une phosphorylation des substrats du récepteur de l'insuline (IRS 1 et 2). Ces protéines phosphorylées activent la voie PI3K/ AKT. Dans les tissus cibles (tissu adipeux, musculaire et foie) ce signal cellulaire entraîne une augmentation de la glycogénogenèse et de la lipogenèse, avec diminution de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse. Dans le tissu adipeux et musculaire, l'insuline entraîne l'augmentation de la captation de glucose en mobilisant le transporteur 2 du glucose (GLUT2) à la membrane (Schéma 1).

La résistance à l'insuline est la conséquence d'une atténuation du signal insulinique, due à un défaut sur la cascade de signalisation. La phosphorylation du récepteur à l'insuline et des protéines IRS non pas sur un résidu tyrosine, mais sur des résidus sérine ou thréonine a été rapportée comme mécanisme principal dans la

résistance à l'insuline. Les acides gras libres, le diacyl glycérol, le glucose ou des cytokines inflammatoires (TNF α , Il1 β) et même l'insuline peuvent induire cette phosphorylation.

Dans l'obésité, l'hyperplasie et l'hypertrophie du tissu adipeux s'accompagnent d'une part d'une capture réduite du glucose, des acides gras libres et d'une augmentation de la lipolyse, et d'autre part d'une inflammation de bas grade par la production de cytokines inflammatoires. Ces éléments contribuent au développement de l'insulino-résistance dans le tissu adipeux initialement, puis dans le foie et le muscle.

Schéma 1 :Actions de l'insuline chez les individus sains



	Glucidique	Lipidique	Protéique
Anabolisme +	Transport du glucose (muscle, tissu adipeux) Glycogénogenèse (muscle, foie)	Lipogenèse (foie, tissu adipeux)	Synthèse protéique
Catabolisme -	Glycogénolyse (muscle, foie)	Lipolyse (tissu adipeux)	Protéolyse (muscle)

II.2.3 Physiopathologie des stéatopathies métaboliques

Le développement des stéatopathies métaboliques est encore mal élucidé.

Première théorie : la stéatose fragiliserait les hépatocytes

La première hypothèse proposée, en 1998, est celle des deux étapes (« 2 hit-hypothesis »)[16]. La première étape aboutit à l'accumulation des graisses dans le foie (stéatose), due à l'afflux augmenté d'acides gras libres vers le foie. Ces acides gras proviennent de l'apport alimentaire, et de l'insulino-résistance des tissus périphériques qui entraînent d'une part une libération accrue des acides gras libres (lipolyse du tissu adipeux et musculaire), et d'autre part une augmentation de la production hépatique de glucose et d'acides gras. Dans le foie, les acides gras libres sont estérifiés pour former des triglycérides, alors stockés dans le cytoplasme des hépatocytes sous la forme de gouttelettes lipidiques. Les triglycérides peuvent aussi être exportés sous la forme de particules de VLDL. Sur ce parenchyme stéatosique, plus sensible alors, certains facteurs (la 2ème étape) comme le stress oxydatif mitochondrial, les cytokines inflammatoires, le stress du réticulum endoplasmique déclencheraient une réponse inflammatoire aboutissant à la constitution de la stéatohépatite et à l'apparition de fibrose (Schéma 2, d'après [17])

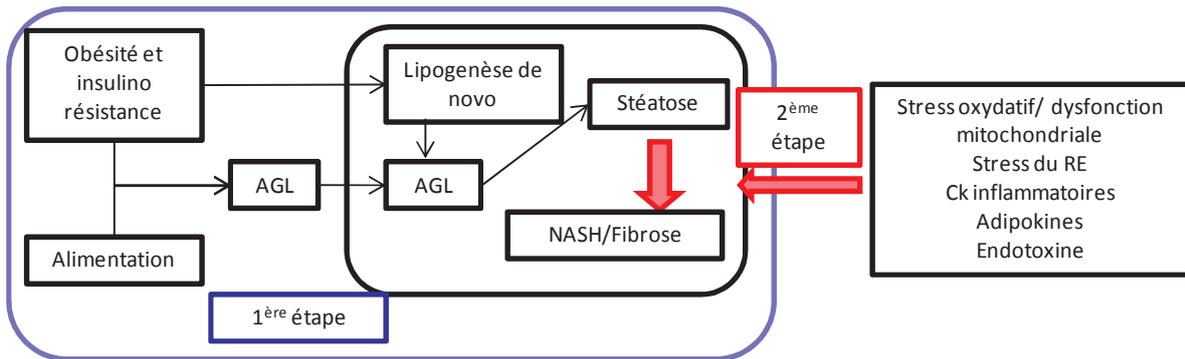
Deuxième théorie : la stéatose aurait un rôle protecteur

Dans l'hypothèse précédente, la stéatose fragiliserait les hépatocytes, les rendant alors plus sensible à la seconde étape. Or la stéatose pourrait au contraire avoir un rôle protecteur. En effet, les acides gras libres, s'ils ne sont pas stockés sous la forme de triglycérides, ont une toxicité hépatique, en augmentant le stress oxydatif et en activant directement la production de cytokines inflammatoires [18].

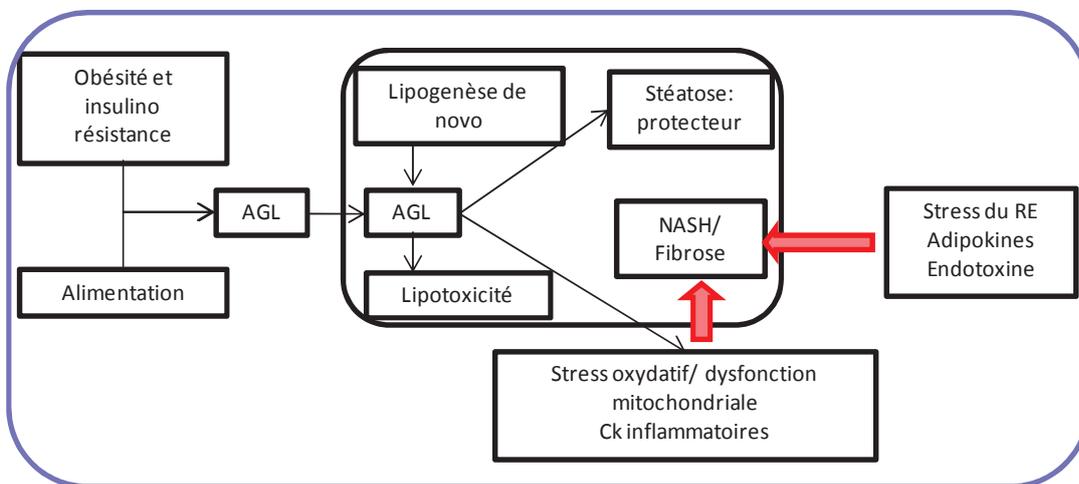
La stéatose pourrait également être une réponse au stress des hépatocytes dû à l'inflammation hépatique, secondaire à l'endotoxémie, au déséquilibre du microbiote intestinal et à la sécrétion de cytokines par le tissu adipeux, organe endocrine et immun [19].

Les cytokines inflammatoires peuvent être produites par le tissu adipeux ou directement par le foie. Elles sont responsables d'une mort hépatocytaire (apoptose et nécrose) associée à un afflux de polynucléaires neutrophiles, caractérisant la stéatohépatite (Schéma 2 d'après Dowman et al. [17]).

Schéma 2 : Physiopathologie des stéatopathies métaboliques



A: Théorie des « 2 étapes ». La première étape correspond à la stéatose, qui fragilise le parenchyme hépatique, alors plus sensible à l'action de certains facteurs (stress oxydatif, stress du RE, etc), entraînant alors une stéato-hépatite et la fibrose.



B: Rôle protecteur de la stéatose. Les acides gras libres sont cytotoxiques et peuvent induire une stéato-hépatite. La stéatose, en estérifiant ces acides gras libres aurait un rôle protecteur.

AGL: acides gras libres, NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis; RE: réticulum endoplasmique, Ck: cytokines

Rôle de l'apoptose

L'apoptose hépatocytaire serait aussi un important mécanisme de progression de la sévérité des hépatopathies métaboliques. Les deux voies de l'apoptose cellulaire contribueraient aux lésions hépatiques. La voie extrinsèque est activée par les récepteurs de mort cellulaire. La voie intrinsèque est activée par des dysfonctions des organites intra-cellulaires, comme la mitochondrie, le lysozyme, le stress du réticulum endoplasmique. Les acides gras libres pourraient être des facteurs déclenchant de cette augmentation de l'apoptose hépatocytaire au cours de la NASH [20]. Les hépatocytes apoptotiques activeraient les cellules de Kupffer (macrophages résidents du foie), responsables d'une part de l'augmentation de l'inflammation, et d'autre part de la progression de la fibrose. En effet, les macrophages activeraient via le TGF β les cellules étoilées, profibrosantes.

Actuellement, la séquence proposée par la théorie des deux étapes est remise en question. Dix à 20% seulement des patients ayant une simple stéatose évolueraient vers la NASH, suggérant que ces deux entités seraient dues à des mécanismes différents. La NASH aurait une origine multifactorielle.

II.3 Aspects histopathologiques

Aucun consensus de prise en charge diagnostique des stéatopathies métaboliques n'a encore été défini et la biopsie reste la méthode de référence. Toutefois la biopsie a certains inconvénients. Il s'agit d'un geste invasif, entraînant des complications de type douleur dans 30%, des complications plus sévères (hémorragies en particulier) dans 0.3% des cas et un décès dans 0.03% [21].

Les lésions élémentaires observées dans les stéatopathies métaboliques sont identiques à celles observées dans l'intoxication alcoolique chronique. Elles correspondent aux étapes de l'atteinte hépatique, qui comme nous l'avons vu, probablement seraient non forcément successives ni obligatoires : stéatose, stéatohépatite (définie par un infiltrat inflammatoire fait de polynucléaires neutrophiles localisés au contact d'hépatocytes ballonnés), et fibrose (figure 2). A ces lésions élémentaires, s'associent fréquemment d'autres lésions non spécifiques comme les corps de Mallory, formations éosinophiles rubanées dans le cytoplasme des hépatocytes ballonnés, ou les méga-mitochondries.

Le système de classification le plus utilisé actuellement évalue et quantifie trois des lésions observées dans les stéatopathies métaboliques : la stéatose, la ballonnisation et l'inflammation. Il s'agit du score NAS (NAFLD activity score), décrit par Kleiner et al.[22] (Tableau II).

La stéatose se grade en score 0 si elle touche moins de 5 % des hépatocytes, en score 1 entre 5 et 33 %, score 2 entre 33 et 66 %, et en score 3 si elle intéresse plus de 66 % des hépatocytes. Elle est macro-vacuolaire si les vacuoles de stéatose sont de taille supérieure à celle du noyau, micro vacuolaire si elles sont de taille inférieure. La stéatose se développe initialement dans les zones péri centrolobulaires.

La ballonnisation et l'inflammation sont gradées selon les critères définis précédemment par Brunt et al.[23]. Trois grades sont proposés pour la ballonnisation selon le nombre d'hépatocytes atteints (0 : aucun, 1 : quelques, 2 : nombreux). L'inflammation est gradée selon le nombre de foyers inflammatoires intra lobulaires observés au grossissement 200 (0 : aucun, 1 : 1 ou 2 foyers, 2 : 3 ou 4 foyers, 4 : 5 foyers ou plus). Les éléments inflammatoires constituant ces foyers sont précisés (polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles, lymphocytes, macrophages...).

La somme du grade de ces lésions permet d'établir le score NAS (NAFLD Activity Score), de 0 à 8. Un score inférieur à 2 élimine le diagnostic de stéatohépatite, supérieur à 5 affirme la stéatohépatite. Entre 2 et 5, le diagnostic ne peut être porté (Borderline).

Si la fibrose n'est pas incluse dans ce score, car considérée comme réversible d'une part, et comme étant la conséquence de la stéatohépatite d'autre part, elle est cependant bien décrite. La fibrose se développe initialement dans les sinus des zones péri centrolobulaires. La classification diffère de la classification de METAVIR, utilisée pour les hépatopathies chroniques virales, où la fibrose est à point de départ portal. Le grade 1 correspond à une fibrose sinusoïdale péri centrolobulaire, discrète (1a), ou modérée (1b) ou péri portale (1c). Le grade 2 correspond à une fibrose sinusoïdale péri centrolobulaire et péri portale. Le grade 3 est défini par la présence de pont, et le grade 4 par la cirrhose (Tableau II).

Un nouveau score a été proposé récemment pour grader l'atteinte hépatique dans les stéatopathies métaboliques [24]. Dans ce système, le grade de la stéatose est identique à celui proposé par Kleiner et al. La ballonnisation se grade de 0 à 2. Dans le grade 0, les hépatocytes sont normaux, ils ont une forme cuboïdale, une

taille normale et un cytoplasme éosinophile. Dans le grade 1, on observe des foyers d'hépatocytes de forme arrondie, au cytoplasme clarifié, mais de taille inférieure à deux fois la taille d'un hépatocyte normal. Dans le grade 2, les hépatocytes sont identiques à ceux du grade 1, mais avec une taille plus importante, supérieure à deux fois celle d'un hépatocyte normal. L'inflammation lobulaire, comme dans le score NAS est définie par des foyers inflammatoires au sein des lobules hépatiques, observés au grossissement 200. Le grade est égal à 0 s'il n'y a pas de foyer, 1 s'il y a 1 ou 2 foyers par champs, 2 s'il y a plus de 2 foyers par champs au grossissement 200.

Un score d'activité est calculé par la somme des grades de la ballonnisation et de l'inflammation, de 0 à 4 : pas d'activité, activité légère, modérée et sévère (Tableau III).

La fibrose est évaluée selon les mêmes modalités que dans le score NAS.

Ce score SAF (Stéatose, Activité, Fibrose), reprenant ces différents items a été proposé et validé par l'équipe de Bédossa et al. Dans l'algorithme proposé (Schéma 2), une stéatose inférieure à 5% exclut le diagnostic de stéatopathie métabolique, quel que soit le grade d'inflammation et de ballonnisation. S'il existe une stéatose supérieure à 5%, le diagnostic de stéatopathie métabolique peut être porté. Le diagnostic de stéatohépatite est posé si le score d'activité est au moins égal à 2.

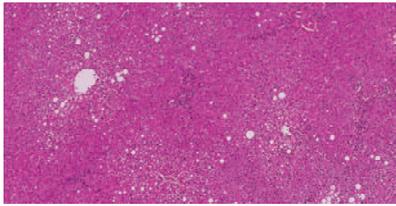
Dans l'étude de Bedossa et al., qui portait sur 679 patients, 158 n'avaient pas de stéatose :

- 2 présentaient une ballonnisation de grade 1, sans inflammation,
- 9 présentaient une inflammation, sans ballonnisation,
- 3% des patients avec un foie par ailleurs normal présentaient une fibrose, le plus souvent de grade 1,
- 18% des patients avec une stéatopathie métabolique sans stéatohépatite présentaient une fibrose.

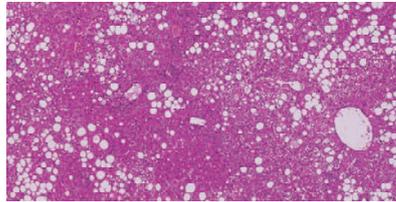
Ce système permet de mettre en évidence et de mieux étudier ces sous types de population, dont l'évolution des lésions ne semble pas être la séquence classique stéatose – ballonnisation, inflammation - fibrose.

Figure 2 : Aspects histopathologiques des NAFLD

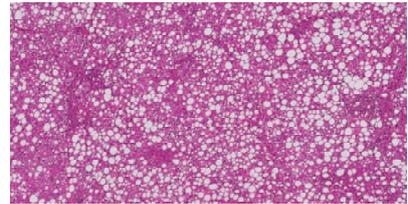
2a:Grades de stéatose selon le pourcentage d'hépatocytes stéatosiques. HES x100



Stéatose de grade 1
5 à 33%

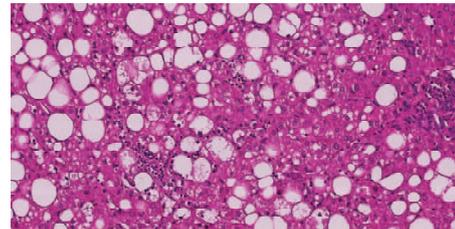
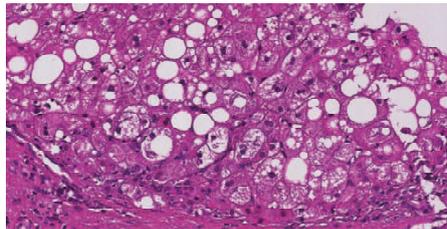


Stéatose de grade 2
33 à 66%



Stéatose de grade 3
Plus de 66%

2b:Stéatohépatite: hépatocytes ballonnés au contact de polynucléaires neutrophiles. HES x200



2c:Fibrose sinusoidale péri centrolobulaire (Grade 1a selon Brunt). Trichrome de Masson x200

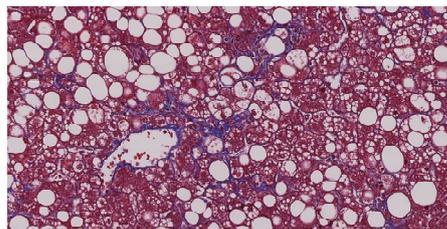


Tableau II: Score NAS et fibrose selon Kleiner et al.

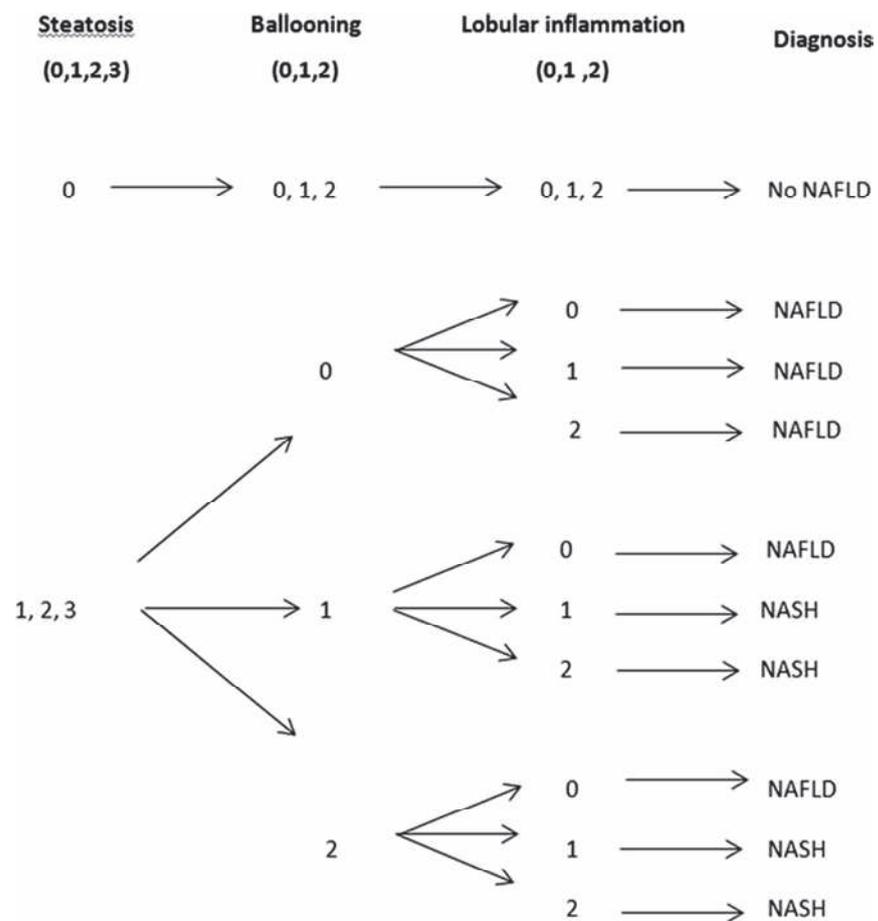
Stéatose %	Inflammation Nombre foyer/ grandissement 200	Ballonnisation	Score NAS
0-3	0-3	0-2	0-8
0: < 5 %	0: 0	0: absence	0-2: Non NASH
1: 5-33 %	1: <2	1: quelques	3-4: Borderline
2: 34-66 %	2: 2-4	2: nombreuses	≥5: NASH
3: 67-100 %	3: >4		

Score NAS = somme des grades de stéatose, inflammation et ballonnisation

Fibrose
0-4
0: normal
1: sinusoidale péri centrolobulaire (discrète:a, modérée:b), péri portale (c)
2: sinusoidale, péri centrolobulaire ET portale
3: septa fibreux
4: cirrhose

Tableau III: Score SAF et algorithme diagnostique selon Bedossa et al.

Stéatose %	Inflammation Nombre foyer/ grandissement 200	Ballonnisation	Score SAF
0-3	0-2	0-2	
0: < 5 %	0: 0	0: absence	Stéatose: 0-3
1: 5-33 %	1: ≤2	1: ballonnés, taille<2 hépatocytes	Activité : 0-4 =Ballonnisation+ Inflammation
2: 34-66 %	2: >2	2: ballonnés, taille>2 hépatocytes	Fibrose
3: 67-100 %			



II.4 Méthodes diagnostiques non invasives

Devant la prévalence et l'évolution des stéatopathies métaboliques, la recherche de méthodes diagnostiques non invasives s'est considérablement développée au cours des dernières années. Ces nouveaux procédés sont destinés à évaluer le degré de stéatose, de fibrose et à diagnostiquer la NASH.

II.4.1 Identification et quantification de la stéatose

En pratique, la recherche et l'évaluation de la stéatose ne sont recommandées qu'en cas de transplantation. Chez les patients obèses sans signe d'appel, il n'y a pas d'intérêt à diagnostiquer la simple stéatose.

L'échographie, le scanner et l'IRM sont différentes méthodes d'imagerie permettant d'évaluer la stéatose, sans pouvoir diagnostiquer la stéatohépatite ou la fibrose. L'échographie et le scanner permettent de diagnostiquer la stéatose hépatique, en comparant l'aspect du parenchyme hépatique à celui du parenchyme rénal ou du parenchyme splénique. Cependant, pour ces deux méthodes, la sensibilité diminue pour des degrés de stéatose inférieure à 30%. L'IRM et la spectro-IRM ont une meilleure sensibilité, et détectent la présence de triglycérides dans le foie dès 3% de stéatose. Cet examen est coûteux, n'est pas fait en routine et n'est pas encore indiqué dans ce cadre [25, 26] .

Plusieurs scores ont été proposés, à des fins surtout épidémiologiques et sont détaillés en annexe [27] .

II.4.2 Prédiction de la NASH

Dans la prise en charge des stéatopathies métaboliques, le diagnostic de stéatohépatite est un élément primordial. Contrairement à la simple stéatose, 20 % des patients avec une stéatohépatite vont évoluer vers la cirrhose.

Les paramètres biologiques simples de routine ont été initialement étudiés. Etant donnée la faible performance diagnostique de ces marqueurs, d'autres indicateurs de la souffrance et de l'inflammation hépatocytaire ont été recherchés.

Enfin, des tests spécifiques combinant des dosages de différents composants biochimiques ont été mis au point.

Marqueurs biologiques de routine

Parmi les marqueurs étudiés en routine, l'activité de l'ALAT et la γ GT semblent être les meilleurs prédicteurs de NASH [28]. Cependant ces marqueurs peuvent être normaux malgré une atteinte hépatique, et semblent avoir une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour diagnostiquer une NASH [29, 30].

Marqueurs nécrotico-inflammatoires

La NASH est caractérisée par une souffrance cellulaire conduisant à l'apoptose associée à une inflammation.

Différentes cytokines ont été évaluées comme facteur prédictif de NASH, mais aucune ne semble être un bio-marqueur fiable et reproductible. L'adiponectine, le TNF α ou encore la cytokine CCL2 secrétée par les macrophages n'ont pas prouvé leur intérêt dans le diagnostic de NASH.

La kératine 18 (K18) est la principale protéine du cytosquelette hépatocytaire. Lors de l'apoptose, l'activation des caspases entraîne le clivage de nombreuses protéines, dont la K18. Le fragment clivé peut alors être dosé dans le sérum des patients, reflétant ainsi le degré d'apoptose cellulaire. Le dosage du fragment clivé de la K18 a été rapporté comme un facteur prédictif de NASH [31]. Ce marqueur est aussi prédictif de la fibrose hépatique chez des patients alcooliques [32].

Les stéatopathies métaboliques sont associées à un état inflammatoire systémique chronique. La CRP étant une protéine produite par le foie lors de l'inflammation, plusieurs études ont porté sur l'étude de cette protéine lors des différents stades de l'atteinte hépatique. Bien que certaines études rapportent une augmentation significative de la CRP lors de la NASH et de la fibrose[33], d'autres concluent que la CRP ne permet pas d'évaluer le degré d'atteinte hépatique [34, 35]. Sur un cohorte de plus de 600 patients européens, il a été rapporté que la CRP serait associée à la stéatose, indépendamment de l'IMC, mais pas aux autres lésions observées dans les stéatopathies métaboliques. La CRP serait un marqueur de stéatose, mais pas de NASH [36].

Tests spécifiques

Les différents tests proposés comprennent l'association de plusieurs paramètres biologiques perturbés au cours des stéatopathies métaboliques.

Nice model

Le Nice model est calculé à partir des niveaux sériques d'ALAT et du fragment clivé de la K18 et de la présence du syndrome métabolique. Il a été mis au point à partir d'une cohorte d'évaluation de 310 patients obèses morbides et validé sur 154 patients. Le diagnostic de NASH était défini par un score NAS supérieur ou égal à 5. Dans la cohorte de validation, la prévalence d'un $NAS \geq 5$ était de 9%. La valeur de la courbe AUROC était de 0,88 pour la cohorte d'évaluation et de 0,83 pour la cohorte de validation. La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative étaient respectivement de 0,84, 0,86, 0,44 et 0,98 [37].

Nash Test

Le Nash test combine les 13 paramètres suivants : l'alpha2-macroglobuline, l'haptoglobine, l'apolipoprotéine A1, les triglycérides, le cholestérol, l'ALAT et l'ASAT, la γ GT, et la bilirubine totale, ajustés à l'âge, le genre, le poids et la taille. Pour mettre au point cet algorithme, 257 patients et 383 contrôles ont été inclus, et classés en 3 groupes : non NASH, borderline ou NASH. Parmi les 257 patients avec NAFLD, la prévalence de la NASH était de 24.5%. La sensibilité pour la NASH était seulement de 33% avec une valeur prédictive positive de 67%. Mais lorsque les cas borderline et NASH étaient regroupés, la sensibilité pour la NASH atteignait 88% et la valeur prédictive positive 74% [38].

Les autres principaux tests utilisés sont présentés en annexe.

II.4.3 Quantification de la fibrose

La présence et la sévérité de la fibrose sont des éléments essentiels dans la prise en charge des stéatopathies métaboliques. La plupart des méthodes sont performantes pour le diagnostic de fibrose à un stade avancé (F3, F4), mais demeurent insuffisantes pour discerner les différents stades précoces de fibrose (F0, F1, F2).

Marqueurs biologiques

Les transaminases ne permettent pas d'identifier et d'évaluer la fibrose. Cependant, l'activité de l'ASAT a été rapportée comme un marqueur de fibrose, et le ratio ASAT/ALAT prédirait une fibrose avancée [39].

L'acide hyaluronique ou le collagène de type IV sont impliqués dans la constitution de la fibrose. Leur dosage prédirait une fibrose à un stade avancé [40, 41].

Tests spécifiques

Comme pour la stéatose et la stéatohépatite, des modèles ont été mis au point pour évaluer la fibrose. Les principaux sont résumés dans le tableau présenté en annexe.

NAFLD fibrosis score

Le NAFLD fibrosis score dépend de six paramètres : l'âge, l'hyperglycémie, l'IMC, le taux de plaquettes, l'albumine et le rapport AST/ALT. Il a été mis au point sur une cohorte de 733 patients. L'AUC est de 0,88 et 0,82 pour la cohorte d'évaluation et de validation respectivement. Deux valeurs seuils ont été définies et permettent de prédire une fibrose avancée ($\geq F3-4$) ou débutante ($\leq F1$) dans 75% des cas. Chez ces patients, le stade de fibrose était bien évalué dans 90% des cas. Pour des valeurs situées entre ces valeurs seuils, l'évaluation du stade de fibrose n'est pas possible (ce qui représente 50% des patients). Ce modèle d'évaluation de la fibrose est actuellement le seul largement validé par plusieurs études [42] et est disponible gratuitement online (naflscore.com).

FibroTest

Le FibroTest est le test le plus utilisé en France. Il a été initialement mis au point pour diagnostiquer la fibrose significative dans les hépatites chroniques virales C et B et dues à l'alcool. Un algorithme utilisant cinq marqueurs (alpha2-macroglobuline, haptoglobine, apolipoprotéine A1, bilirubine totale, γ GT), ajustés à l'âge et au sexe du patient, permet d'établir un index de fibrose comme estimation de la fibrose hépatique. Ce test a ensuite été évalué dans les stéatopathies métaboliques. L'étude a porté sur 170 patients suspectés de présenter des lésions hépatiques dues à l'obésité. Le diagnostic de fibrose significative correspondant à

une fibrose supérieure ou égale à deux, la sensibilité et la spécificité étaient de 77 % respectivement, pour une valeur seuil à 0.3 et de 15% et 98% pour une valeur seuil à 0.7. Il existe un certain nombre de causes assez bien identifiées de faux positifs et faux négatifs du FibroTest, dues à une modification d'un des différents paramètres indépendamment de l'atteinte hépatique (hémolyse, maladie de Gilbert, cholestase, inflammation aiguë).

FibroMètres

Les FibroMètres sont des tests permettant d'évaluer le degré de fibrose et l'aire de fibrose à l'aide de paramètres variables selon l'étiologie. Pour les stéatopathies métaboliques, le grade de fibrose est évalué à partir des plaquettes, du niveau d'ASAT et d'ALAT, de la ferritine, de la glycémie, de l'âge et du poids du patient. L'aire de fibrose se calcule à partir du taux d'acide hyaluronique, du TP, des transaminases et de la glycémie. Le logiciel utilisé dispose d'un système expert. Ce test a été évalué sur 235 patients, dont la prévalence de fibrose ≥ 2 était de 27.7%, avec une efficacité pour le diagnostic de fibrose significative de 91% (AUROC 0.943) avec une valeur prédictive positive de 97.4% [43-45].

Méthodes physiques

Fibroscan

L'élastométrie impulsionnelle ultra sonore (Fibroscan®) permet par la mesure de la vitesse de propagation d'une onde générée par un transducteur ultra sonore, d'évaluer l'élasticité hépatique (kPa). Cette technique a été validée pour la détection de fibrose avancée dans de nombreuses pathologies hépatiques, avec une bonne reproductibilité inter et intra observateur. Cependant, cette reproductibilité est moins bonne pour diagnostiquer la fibrose débutante, ou dans un foie stéatosique (>25% de stéatose), ou encore chez les patients avec un BMI>25kg/m². De plus, d'autres facteurs influent sur l'élasticité hépatique, dont la nécrose et l'inflammation. Il est recommandé d'effectuer les mesures 3 mois après la normalisation des transaminases, et des algorithmes intégrant la valeur des ALAT sont utilisés pour l'interprétation des résultats. D'autres facteurs comme une cholestase extra hépatique, une congestion hépatique, une amylose hépatique ou une prise alimentaire récente faussent les résultats de l'examen. Dans 11,6% à 18,4% des

cas, la mesure de l'élasticité ne peut être obtenue. Un IMC élevé a été rapporté comme étant un facteur indépendant d'échec de cette technique. Récemment une nouvelle sonde XL adaptée aux patients obèses a été proposée et semble montrer une plus grande efficacité [46, 47].

ARFI

Cette nouvelle méthode permet la mesure de la dureté hépatique par une technique d'élastométrie. Elle peut être intégrée sur un système d'échographie. Plusieurs études rapportent des résultats similaires à ceux du Fibroscan pour l'évaluation de la fibrose [48].

II.5 Prise en charge

II.5.1 Mesures hygiéno-diététiques

Les mesures hygiéno-diététiques conduisant à une perte de poids sont les plus efficaces dans la prise en charge des stéatopathies métaboliques. Elles consistent en une perte pondérale progressive (environ 10 % du poids initial, 0,5 à 1,5 Kg/semaine), obtenue par un régime diététique équilibré (réduction calorique, réduction des boissons sucrées, consommation de fibres et d'acides gras polyinsaturés) et par la pratique d'exercice physique, qui reste utile indépendamment de la perte pondérale.

II.5.2 Prise en charge chirurgicale

Il est connu que cette perte de poids est difficile à obtenir, et une chirurgie bariatrique peut être proposée dans certains cas. Associée à la perte de poids, d'autres effets sont observés après une telle chirurgie comme une amélioration de l'insulino-résistance, une diminution des troubles lipidiques et une diminution de l'inflammation. Les mécanismes, encore mal élucidés sont étudiés avec intérêt [49].

II.5.3 Prise en charge médicamenteuse

A ces mesures s'associe la prise en charge médicamenteuse des affections concomitantes avec utilisation de statines pour les dyslipidémies, d'anti-hypertenseurs ou d'anti-diabétiques selon les recommandations spécifiques habituelles.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus pour un traitement médicamenteux des stéatopathies métaboliques. Parmi les molécules les plus évaluées, on note les agonistes des récepteurs nucléaires PPAR (Peroxisomeproliferator-activatedreceptor) gamma, la metformine et la vitamine E [50].

Les thiazolidinediones (TZD), agonistes actuels des PPAR γ , entraînaient la maturation du tissu adipeux, et une diminution de la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par celui-ci. Ils amélioraient la sensibilité à l'insuline du tissu adipeux, du foie et du muscle. L'une des TZD, la pioglitazone améliorait la stéatose, l'inflammation et la souffrance hépatocellulaire, avec également une amélioration des valeurs des transaminases. Les effets de cette molécule sur la fibrose n'ont pas été démontrés [51]. L'innocuité au long cours de cette molécule n'est pas démontrée avec notamment des risques de cancer vésicaux qui interdit son usage actuel en Europe (usage possible aux USA). La rosiglitazone, une autre TZD, a été retirée du marché. Une diminution de la stéatose, du taux d'ALAT et de la résistance à l'insuline était observée, sans modification de l'inflammation et de la souffrance cellulaire [52]. De plus, une augmentation des ASAT et une prise de poids à l'arrêt du traitement ont été rapportées. Surtout son usage a été associé à une augmentation d'événements cardio-vasculaires qui a entraîné son retrait du marché.

La metformine est un anti diabétique appartenant à la classe des biguanides. Elle augmente la sensibilité à l'insuline via la voie de l'AMPK. Si ce traitement améliore la perte de poids, l'insulino-sensibilité et le taux de glycémie, son rôle dans l'amélioration des lésions hépatiques n'a pas pu être démontré [53].

Dans une étude contrôlée, la vitamine E, un anti oxydant, a été testée versus un placebo et de la pioglitazone. Une amélioration du score histologique (NAS) dans les groupes traités par la vitamine E et la pioglitazone a été observée.[51].

Enfin, l'acide ursodeoxycholique (UDCA) qui est utilisé dans plusieurs hépatopathies chroniques pour son rôle anti apoptotique et cytoprotecteur, a été étudié. Bien que plusieurs études rapportent une diminution des transaminases avec ce traitement, une importante étude de 174 patients démontre qu'aucune différence entre les patients traités par UDCA et le groupe contrôle n'est observée, tant sur le dosage des transaminases que sur les lésions histopathologiques[54].

III MATERIELS ET METHODES

III.1 Patients et recueil des données

Ce travail a été réalisé sur la série de patients obèses morbides du Pôle digestif du CHU de Nice chez lesquels une chirurgie de l'obésité a été effectuée. Il s'agit de sujets des 2 sexes, avec un IMC justifiant d'une chirurgie de l'obésité ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ou $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$ avec comorbidités invalidantes). Ces patients n'ont pas d'autres causes d'hépatopathie et une consommation d'alcool $< 20 \text{ g/j}$. Ces patients ont été recrutés de novembre 2002 à avril 2013, au cours de quatre programmes hospitaliers de recherche clinique obtenus successivement.

Pour chaque patient, les données cliniques, un bilan biologique incluant un bilan hépatique et endocrinien, et une sérothèque sont disponibles. Au cours de l'intervention, une biopsie hépatique a été réalisée pour étude histologique.

Les données du bilan biologique suivantes ont été dosées sur un prélèvement sanguin fait après 12 heures de jeûne : ASAT, ALAT, γ GT, bilirubine totale, taux de prothrombine (TP), glycémie, insulinémie, peptide C, hémoglobine glyquée, cholestérol total, HDL-cholestérol, LDL cholestérol, triglycérides, acides gras libres, et CRP.

L'HOMA-IR (Homeostasis Model AssesmentInsulinResistance) est un index qui reflète l'insulino-résistance générale. Il caractérise les anomalies de la sensibilité et de la sécrétion insulinique à partir des concentrations plasmatiques à jeun du glucose (mmol/L) et de l'insuline ($\mu\text{IU/L}$). Il est calculé selon la formule $[\text{glucose}] \times [\text{insuline}] / 22,5$.

L'Adipose-IR est un index qui reflète l'insulino-résistance du tissu adipeux. Il caractérise les anomalies de la sensibilité à l'insuline du tissu adipeux. Dans des conditions normales, l'insuline inhibe la lipolyse, diminuant le niveau d'acides gras libres plasmatique. Il existe une relation entre la concentration d'acides gras libres plasmatique à jeun (mmol/L) et la concentration plasmatique à jeun d'insuline (pmol/L). L'index est donné par la formule $[\text{acides gras libres}] \times [\text{insuline}]$.

Ces index sont utilisés dans de nombreuses études, bien que la définition d'un seuil à partir duquel on identifie l'insulino-résistance générale concernant l'HOMA-IR et du tissu adipeux concernant l'Adipose-IR ne soit pas clairement établie.

Le syndrome métabolique a été diagnostiqué selon les critères 2009 : associant 3 anomalies parmi une augmentation du tour de taille (tour de taille ≥ 80 cm chez les femmes et ≥ 94 cm chez les hommes), des triglycérides ≥ 1.7 mmol/L ou un traitement anti hypertriglycéridémie, HDL-cholestérol < 1.29 mmol/L chez les femmes et < 1.03 mmol/L chez les hommes ou traitement, hypertension artérielle ou traitement anti anti-hypertenseur, et glycémie à jeun ≥ 5.6 mmol/L ou diabète de type II.

III.2 Étude anatomopathologique des biopsies hépatiques

Elle est réalisée au sein du laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHU de Nice (Pr Michiels).

L'étude histologique est réalisée à partir de fragments biopsiques fixés dans du formol à 10%, inclus en paraffine, avec des coupes de 3 microns d'épaisseur, colorées par Hématoxyline-Eosine-Safran, Rouge Sirius ou trichrome de Masson et Perls.

Evaluation de la stéatose

La stéatose a été évaluée selon une échelle semi-quantitative établie par Brunt et Kleiner[22]. Elle est gradée en score 0 lorsqu'elle touche moins de 5% des hépatocytes, en grade 1 lorsqu'elle touche de 5 à 33% des hépatocytes, en grade 2 lorsqu'elle touche 33 à 66% des hépatocytes, en grade 3 lorsqu'elle touche plus de 66% des hépatocytes

Evaluation de la NASH, du score NAS et de l'activité selon Bedossa

La NASH était diagnostiquée par la présence de foyers de stéato hépatite, caractérisés par des hépatocytes ballonnés au contact de polynucléaires neutrophiles.

Le score NAS de Kleiner est égal à la somme des grades de la stéatose, de l'inflammation et de la ballonnisation définis ci-dessous.

L'inflammation est gradée selon le nombre de foyers inflammatoires intra lobulaires par champs observés au grandissement 200 : 0 : aucun, 1 : 1 ou 2 foyers,

2 : 3 ou 4 foyers, 4 : 5 foyers ou plus. La ballonnisation est gradée en fonction du nombre de cellules ballonnées (0 : aucun, 1 : quelques, 2 : nombreux).

L'activité selon Bedossa est égale à la somme des grades de l'inflammation et de la ballonnisation décrits ci-dessous.

L'inflammation est gradée selon le nombre de foyers inflammatoires intra lobulaires par champs observés au grossissement 200 : 0 : aucun, 1 : 1 ou 2 foyers, 2 : plus de 2 foyers. La ballonnisation est gradée en fonction du nombre et de l'aspect des hépatocytes ballonnés (0 : absence, 1 : arrondis, cytoplasme clarifié, taille inférieure à deux fois la taille d'un hépatocyte normal, grade 2 : comme grade 1, taille supérieure à deux fois celle d'un hépatocyte normal).

Evaluation de la Fibrose

La fibrose a été évaluée selon une échelle semi-quantitative établie par Brunt et Kleiner[22]: 0 : absence, 1 : fibrose sinusoïdale péri centrolobulaire, discrète (1a), ou modérée (1b) ou péri portale (1c), 2 : fibrose sinusoïdale péri centrolobulaire et péri portale, 3 : pont, 4 : cirrhose.

III.3 Dosages sériques

Les dosages sériques du fragment de kératine 18, et de la kératine 18 totale, ont été effectués à partir de la sérothèque réalisée chez ces malades obèses au sein de l'équipe N°8 « complications hépatiques de l'obésité » du centre C3M/INSERM U 1065 (codirigée par le Pr Albert Tran et le Dr Philippe Gual). Les tests ELISA utilisés sont tous standardisés, commercialisés, sensibles et très facilement transposables vers les services de biologie.

La kératine 18 totale est libérée par les cellules nécrotiques. Le fragment clivé de la kératine 18 est produit lors de l'apoptose (clivage dépendant des caspases). L'antigène M65 reconnaît toutes les formes de kératine 18, son niveau reflète la mort hépatocytaire totale (nécrose et apoptose). L'antigène M30 reconnaît le fragment clivé de la kératine 18, son niveau reflète l'apoptose hépatocytaire. La différence entre ces deux niveaux d'expression reflète la nécrose hépatocytaire.

Le fragment clivé de la K18 (antigène M30) et la K18 totale (antigène M65) ont été dosés par les kits M30 Apoptosense H ELISA assay et M65 ELISA assay (PEVIVA), respectivement, selon les recommandations du fabricant.

III.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel NCSS 2007.

Comparaison des groupes non NASH/NASH : L'identification des paramètres cliniques et biologiques associés à la présence d'une NASH ont fait appel à un test non paramétrique de Mann Whitney ou à un test de Student.

Comparaison des groupes Non NAFLD/Stéatose pure/NASH : L'identification des paramètres cliniques et biologiques entre ces 3 groupes ont fait appel à un test de Kruskal Wallis, puis seulement si ce test était significatif, les variables des 3 groupes ont été comparées deux à deux selon le test non paramétrique de Mann Whitney ou à un test de Student.

Analyses multivariées : Les analyses multivariées ont été réalisées en utilisant une régression logistique avec estimation de l'odds ratios (OD), et de l'intervalle de confiance à 95% (IC 95). Les valeurs statistiquement significatives ont été utilisées pour réaliser une deuxième régression logistique. L'équation de régression de cette nouvelle analyse a permis d'établir un modèle diagnostique. La performance diagnostique de ce type de modèle a été réalisée notamment en analysant la courbe ROC et l'aire sous la courbe ROC de ce type de modèle. Ces analyses ont été réalisées pour déterminer un modèle diagnostiquant la NASH dans la cohorte des 362 patients obèses morbides.

Performances diagnostiques : Les performances diagnostiques ont été calculées grâce aux indices informationnels habituels : la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN).

La sensibilité reflète la probabilité d'avoir un test positif lorsque la maladie est présente. Elle se calcule par le rapport des malades avec un test positif (vrais positifs ou VP) sur l'ensemble des malades.

La spécificité reflète la probabilité d'avoir un test négatif lorsque la maladie n'est pas présente. Elle se calcule par le rapport des non malades avec test négatif (vrais négatifs ou VN) sur l'ensemble des non malades.

Une bonne sensibilité limite le nombre de faux négatifs parmi les malades.

Une bonne spécificité limite le nombre de faux positifs parmi les non malades.

La valeur prédictive positive reflète la probabilité d'être malade si le test est positif. Elle se calcule par le rapport de malades avec un test positif sur l'ensemble des cas avec un test positif (vrais positifs et faux positifs). Elle est influencée par la prévalence de la maladie.

La valeur prédictive négative reflète la probabilité de ne pas être malade lorsque le test est négatif. Elle se calcule par le rapport de non malades avec un test négatifs sur l'ensemble des cas avec un test négatif (vrais négatifs et faux négatifs). Elle est influencée par la prévalence de la maladie.

La courbe ROC (Receiver Operating Characteristic) est construite selon les valeurs de la sensibilité (en ordonnée) et de la spécificité (1- la spécificité en abscisse). Plus la sensibilité et la spécificité seront élevées, plus la courbe sera proche de l'angle supérieur gauche du graphique. Moins la sensibilité et la spécificité seront élevées, plus la courbe sera proche de la diagonale du graphique. Ces informations sont reflétées par la valeur de l'aire sous la courbe ROC (AUROC : Area Under Receiver Operating Characteristic). L'AUROC représente l'efficacité globale du test. Alors qu'une valeur d'AUROC à 0.50 reflète un test non discriminant (courbe ROC sur la diagonale), une valeur d'AUROC à 1 est idéale. En pratique une valeur supérieure à 0.70 est acceptable, supérieure à 0.80 excellente.

Analyse selon le grade de stéatose : Les valeurs de différents paramètres en fonction du grade de stéatose sont présentées sous la forme de boîtes à moustache. La ligne horizontale à l'intérieur de chaque boîte représente la médiane. Les lignes horizontales supérieure et inférieure de chaque boîte représentent les premier et troisième quartiles. Les lignes verticales aux extrémités de chaque boîte représentent les centiles (5e et 95e). Les points correspondent aux données extrêmes.

Les tests de corrélation des paramètres biologiques en fonction du grade de stéatose ont fait appel à un test de corrélation non paramétrique de Spearman.

IV RESULTATS

IV.1 Stéatopathies métaboliques : Analyse histologique et recherche de marqueurs clinico-biologiques sur 857 obèses morbides

IV-1-1 Description de la cohorte de 857 obèses morbides

IV-1-1a Analyse histologique

Les caractéristiques histopathologiques des 857 patients sont présentées dans le tableau IV.

-7.8% avaient un foie « normal », non stéatosique, sans inflammation, ni ballonnisation,

-73.2% avaient une stéatose sans NASH, parmi lesquels 1% avaient une inflammation isolée et 12.3% des hépatocytes ballonnés isolément,

-19% avaient une NASH, parmi lesquels, 60.1% avaient un score NAS ≥ 5 et 100% une activité selon Bedossa ≥ 2 . 43% avait une stéatose de grade ≤ 2 . La fibrose observée était de grade 0 à 4, dont 2 cas de cirrhose.

IV-1-1b Caractéristiques clinico-biologiques

Les paramètres clinico-biologiques des 857 patients répartis selon l'absence (groupe non NASH) ou la présence de NASH (groupe NASH) sont présentés dans le tableau V.

Les paramètres significativement plus élevés lors de la NASH étaient les suivants :

- données cliniques : âge, IMC, tour de taille, masse maigre, dépense énergétique,
- fonction hépatique : ALAT, ASAT, γ GT,
- bilan insulinique : HOMA-IR, Adipose-IR, glycémie, insuline, peptide C, HbA1c,
- paramètres lipidiques : HDL-cholestérol (significativement moins élevé), triglycérides et acides gras libres,
- le syndrome métabolique était plus significativement plus fréquent chez les NASH par rapport aux non NASH.

Les paramètres clinico-biologiques des 857 patients répartis selon l'absence de stéatose (groupe Non NAFLD/ « foie normal »), la présence de stéatose sans

NASH (groupe stéatose pure), et la présence de NASH (groupe NASH) sont présentés dans le tableau VI.

Parmi les paramètres cliniques, du bilan hépatique, glucidique et lipidique significativement plus élevés avec la NASH observés dans le tableau précédent (tableau VI), la plupart sont significativement plus élevés dans le groupe avec stéatose pure que dans le groupe sans stéatose. Ils augmentent également significativement lors de la NASH, par rapport à la stéatose pure. Parmi les paramètres qui n'étaient pas significativement plus élevés avec la stéatose, mais avec la NASH uniquement, on note le tour de taille, la masse maigre et les acides gras libres.

En d'autres termes, la plupart des paramètres étudiés sont moins élevés dans le groupe sans atteinte hépatique (non NAFLD) par rapport au groupe avec stéatose pure, et augmentent encore lors de la NASH (tableau VI).

Tableau IV. Caractéristiques histopathologiques des 857 patients obèses morbides

	Total	Non NAFLD	Stéatose pure	NASH
N (%)	857	67 (7.8)	627 (73.2)	163 (19)
Stéatose n(%)				
0	67 (7.8)	67 (100)	-	-
1	319 (37.2)	-	305 (48.6)	14 (8.6)
2	251 (29.3)	-	195 (31.1)	56 (34.4)
3	220 (25.7)	-	127 (20.3)	93 (57.1)
Inflammation n(%)	169 (19.7)	0	6 (1)	163 (100)
1	159 (18.6)	-	5 (0.8)	154 (94.5)
2	10 (1.2)	-	1 (0.2)	9 (5.5)
Ballonnisation n (%)	240 (28)	0	77 (12.3)	163 (100)
1	234 (27.3)	-	77 (12.3)	157 (96.3)
2	6 (0.7)	-	-	6 (3.7)
NAS n(%)				
≤2	532 (62.1)	67 (100)	465 (74.2)	-
3-4	227 (26.5)	-	162 (25.8)	65 (39.9)
≥5	98 (11.4)	-	-	98 (60.1)
Activité n(%)				
0	611 (71.3)	67 (100)	544 (86.8)	-
1	82 (9.6)	-	82 (13.1)	-
≥ 2	164 (19.1)	-	1 (0.2)	163 (100)
Fibrose n(%)				
0	119 (13.9)	12 (18)	89 (14.2)	18 (11.1)
1a	330 (38.5)	28 (41.8)	247 (39.4)	55 (33.7)
1b	44 (5.1)	5 (7.5)	35 (5.6)	4 (2.5)
1c	121 (14.1)	5 (7.5)	95 (15.2)	21 (12.9)
2	204 (23.8)	17 (25.4)	145 (23.1)	42 (26)
3	37 (4.3)	-	16 (2.6)	21 (13)
4	1 (0.1)	-	-	2 (1.2)

Les résultats sont présentés en nombre (pourcentage).

NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis, Stéatose, score NAS et fibrose évalué selon Kleiner, activité évaluée selon Bedossa.

Tableau V. Données cliniques et biologiques des 857 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NASH

	Non NASH	NASH	p
N (F/H)	694 (600/94)	163 (122/41)	<0.0002
SM IDF n(%)	221 (31.8)	99 (60.7)	<0.0001
Âge (ans)	39 ± 11.3	41.5 ± 11.9	<0.05
IMC (kg/m²)	43.3 ± 5,0	44.3 ± 5.7	<0.05
Tour de taille (cm)	119.2 ± 13.9	126.5 ± 14.5	<0.0001
Masse maigre (kg)	59,0 ± 12.9	63.4 ± 14.6	<0.001
Masse grasse (kg)	57.7 ± 12.4	58.6 ± 11.9	NS
DE (kcal)	1785.1 ± 430.5	2009.1 ± 563.3	<0.0001
ASAT (UI/L)	26.5 ± 11.1	37.1 ± 22.4	<0.0001
ALAT (UI/L)	31.9 ± 21.6	50.4 ± 36.2	<0.0001
γGT (UI/L)	38.6 ± 40.7	57.6 ± 52.9	<0.0001
Bili totale (μmol/L)	7.4 ± 3.4	7.6 ± 4.8	NS
TP (%)	94.8 ± 8.4	95.9 ± 9.8	NS
HOMA-IR	5.3 ± 4.6	9.7 ± 9.2	<0.0001
Adipo-IR	12.6 ± 9.6	20.2 ± 14.5	<0.0001
Glycémie(mmol/L)	5.4 ± 1.7	6.5 ± 2.8	<0.0001
Insuline (mUI/L)	21.7 ± 16.7	31.6 ± 22.4	<0.0001
Peptide C (pmol/L)	931.6 ± 384,0	1194.5 ± 479.7	<0.0001
HbA1c (%)	5.8 ± 0.9	6.4 ± 1.3	<0.0001
CT (mmol/L)	5.3 ± 1.0	5.4 ± 1.2	NS
HDL-C (mmol/L)	1.4 ± 0.3	1.2 ± 0.3	<0.0001
LDL -C (mmol/L)	3.2 ± 0.9	3.2 ± 1,0	NS
TG (mmol/L)	1.5 ± 0.8	2.2 ± 1.7	<0.0001
AGL (mmol/l)	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.005
CRP (mg/L)	10.8 ± 8.9	11.4 ± 9.2	NS

Les résultats exprimés en moyenne ± écart-type.

IMC: Indice de Masse corporelle; DE: dépense énergétique; TP: taux de prothrombine; ASAT: Aspartate amino transferase; ALAT: Alanine Amino-transferase; γGT: gamma glutamyl transferase; HbA1c: hémoglobine glyquée CT: cholestérol total; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol; TG: triglycérides; AGL: acides gras libres; CRP: protéine C réactive; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

Tableau VI. Données cliniques et biologiques des 857 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NAFLD et de NASH

	Non NAFLD	Stéatose pure	NASH
N (F/H)	67 (63/4)	627 (537/90)	163 (122/41)
SM IDF n(%)	6 (9)	215 (34.3)*	99 (60.7)* [§]
Âge (ans)	34 ± 10.6	39.5 ± 11.3*	41.5 ± 11.9* [§]
IMC (kg/m²)	41.9 ± 3.4	43.4 ± 5.2*	44.3 ± 5.7*
Tour de taille (cm)	116.8 ± 13.3	119.4 ± 13.9	126.5 ± 14.5* [§]
Masse maigre (kg)	57.8 ± 12.5	59.1 ± 13,0	63.4 ± 14.6* [§]
Masse grasse (kg)	54.3 ± 12.2	58.0 ± 12.4*	58.6 ± 11.9*
DE (kcal)	1591.7 ± 413,0	1805.7 ± 427.6*	2009.1 ± 563.3* [§]
ASAT (UI/L)	22.4 ± 5.5	27.0 ± 11.4*	37.1 ± 22.4* [§]
ALAT (UI/L)	21.9 ± 9.8	33.0 ± 22.2*	50.4 ± 36.2* [§]
γGT (UI/L)	29.3 ± 36.1	39.6 ± 41*	57.6 ± 52.9* [§]
Bili totale (µmol/L)	7.1 ± 3.6	7.4 ± 3.4	7.6 ± 4.8
TP (%)	92.8 ± 11.7	95.0 ± 8*	95.9 ± 9.8*
HOMA-IR	2.8 ± 1.5	5.5 ± 4.7*	9.7 ± 9.2* [§]
Adipo-IR	7.7 ± 5.3	13.1 ± 9.8*	20.2 ± 14.5* [§]
Glycémie(mmol/L)	4.6 ± 0.6	5.5 ± 1.8*	6.5 ± 2.8* [§]
Insuline (mUI/L)	13.7 ± 6.8	22.6 ± 17.2*	31.6 ± 22.0* [§]
Peptide C (pmol/L)	707.5 ± 268.4	955.5 ± 386.9*	1194.5 ± 479.7* [§]
HbA1c (%)	5.4 ± 0.4	5.8 ± 0.9*	6.4 ± 1.3* [§]
CT (mmol/L)	5.1 ± 0.9	5.3 ± 1.1	5.4 ± 1.2
HDL-C (mmol/L)	1.5 ± 0.4	1.4 ± 0.3*	1.2 ± 0.3* [§]
LDL -C (mmol/L)	3.1 ± 0.8	3.2 ± 0.9	3.2 ± 1,0
TG (mmol/L)	1.1 ± 0.4	1.6 ± 0.8*	2.2 ± 1.7* [§]
AGL (mmol/l)	0.6 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2* [§]
CRP (mg/L)	11.2 ± 8.3	10.7 ± 9.0	11.4 ± 9.2

Les résultats exprimés en moyenne ± écart-type.

IMC: Indice de Masse corporelle; DE: dépense énergétique; TP: taux de prothrombine; ASAT: Aspartate amino transferase; ALAT: Alanine Amino-transferase; γGT: gamma glutamyl transferase; HbA1c: hémoglobine glyquée CT: cholestérol total; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol; TG: triglycérides; AGL: acides gras libres; CRP: protéine C réactive; NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

* : p<0.05 vs Non NAFLD; § : p<0.05 vs stéatose pure.

IV-1-2 Recherche de marqueurs diagnostiques parmi les paramètres sériques dosables en routine

Les performances diagnostiques, représentées par la valeur de l'aire sous la courbe ROC, de l'ALAT, l'HOMA-IR, l'adipose-IR, l'insuline, l'HDL-c et des triglycérides pour le diagnostic d'une stéatopathie métabolique (NAFLD) et d'une NASH sont présentées dans le tableau VII. Le diagnostic d'une stéatopathie métabolique permet de différencier les patients ayant une stéatose simple ou une NASH versus ceux ayant un « foie normal » (absence de NAFLD). Le diagnostic de NASH permet de différencier les patients ayant une NASH versus ceux ayant une stéatose pure ou un foie normal.

IV-1-2a Recherche de marqueurs pour le diagnostic de NAFLD

Pour le diagnostic de NAFLD (stéatose avec ou sans NASH), l'HOMA-IR avait l'aire sous la courbe ROC la plus élevée (0.78) (tableau VIIa). Ce paramètre avait une bonne capacité à prédire une NAFLD (bonne valeur prédictive positive à 89% en utilisant un seuil à 3) (tableau VIIb). Cependant, une valeur d'HOMA-IR basse n'éliminait pas une NAFLD (valeur prédictive négative faible à 18% en utilisant un seuil à 3).

Si l'on choisit un seuil à 6.5, un patient dont l'HOMA-IR était supérieur au seuil avait de forte chance d'avoir une NAFLD. Cependant, beaucoup de patients avec une NAFLD avaient un HOMA-IR inférieur à 6.5 (sensibilité à 30%).

IV-1-2b Recherche de marqueurs pour le diagnostic de NASH

Pour le diagnostic de NASH les valeurs des AUC de l'ALAT, l'HOMA-IR, l'adipose-IR, l'insuline, l'HDL-c et des triglycérides étaient \leq à 0.70. La valeur diagnostique de l'ALAT était similaire à celle de l'HOMA-IR (0.69) et inférieure à celle de l'adipose-IR (0.70) (tableau VIIa).

Nous avons évalué la performance diagnostique de l'ALAT à 0.5 fois la limite supérieure de la normale pour le diagnostic de NASH (tableau VIIc). La limite supérieure de la normale de l'ALAT (N) est de 31UI/L pour les femmes et 41UI/L pour les hommes. Parmi les 163 NASH, 150 avaient une valeur d'ALAT \geq 0.5N. Parmi les 693 non NASH, 588 avaient une valeur d'ALAT \geq 0.5N.

Le test n'est pas performant pour identifier les patients NASH. Si la sensibilité est bonne, la spécificité est très faible. En d'autres termes, la plupart des patients NASH et non NASH ont des ALAT supérieurs à 0.5 N. L'intérêt du test est si l'on considère les patients avec un taux d'ALAT inférieur à 0.5N. Il y a peu de risque d'avoir une NASH si la valeur d'ALAT est inférieure à <0.5N (bonne valeur prédictive négative à 89%) (tableauVIIc).

Nous avons cherché à améliorer cette capacité de la valeur d'ALAT < 0.5N à éliminer la NASH. Nous avons donc comparé dans le groupe de patients qui avaient une valeur d'ALAT < 0.5N plusieurs paramètres clinico-biologiques selon la présence ou non de NASH (105 non NASH et 13 NASH). Le tour de taille, l'insulinémie, le peptide C, l'HbA1c, les triglycérides, l'HOMA-IR et l'adipose- IR étaient significativement plus élevés chez les NASH. L'HDL-c était plus bas plus bas chez les NASH.

Autrement dit les patients ayant une NASH et une valeur d'ALAT < 0.5N diffèrent des non NASH par une plus forte insulino-résistance. La valeur d'HOMA-IR la plus basse dans le groupe des patients NASH avec une valeur d'ALAT < 0.5N était de 2.67. Aucun patient NASH avec une valeur d'ALAT < 0.5N n'avait un HOMA-IR < 2.5.

Donc dans notre cohorte de patients obèses morbides, l'association ALAT <0.5N et HOMA-IR < 2.5 permettait d'éliminer la présence d'une NASH.

Tableau VII. Capacité à diagnostiquer une NAFLD ou une NASH de l'ALAT et des marqueurs de l'insulino-résistance (n=857)

AUROC	NAFLD	NASH
ALAT UI/L	0.72	0.69
HOMA-IR	0.78	0.69
Adipose-IR	0.74	0.70
Insuline (mUI/L)	0.74	0.66
HDL (mmol/L)	0.62	0.63
TG (mmol/L)	0.74	0.65

a. Valeurs diagnostiques (AUROCs) pour la présence de NAFLD et de NASH (n=857)

HOMA-IR	Se	Sp	VPP	VPN
3	0,76	0,61	0,96	0,18
4,7	0,50	0,89	0,98	0,13
6,5	0,30	0,98	1,00	0,10
Adipose IR				
4,8	0,90	0,37	0,94	0,24
7,6	0,75	0,59	0,96	0,17
11,7	0,50	0,80	0,97	0,12

b. Prédiction de la NAFLD : performance diagnostique de l'HOMA-IR et de l'Adipose-IR (n=857)

	Se	Sp	VPP	VPN
HOMA-IR				
2,5	0,93	0,22	0,22	0,93
ALAT (UI/L)				
≥0.5N	0,92	0,15	0,20	0,89

c. Prédiction de la NASH: performance diagnostique de l'HOMA-IR et d'un taux d'ALAT supérieur à 0.5 fois la limite supérieure de la normale (n=857)

AUROC: aire sous la courbe ROC (receiver-operating characteristic)

ALAT: Alanine Amino-transferase; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; TG: triglycérides; NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

Se: sensibilité; Sp: spécificité; VPP: valeur prédictive positive; VPN: valeur prédictive négative

IV.2 Stéatopathies métaboliques : Analyse histologique et recherche de marqueurs clinico-biologiques et de marqueurs de mort sur 362 obèses morbides

IV-2-1 Description de la cohorte de 362 obèses morbides

IV-2-1a Analyse histologique

Les caractéristiques histopathologiques des 362 patients sont présentées dans le tableau VIII.

-6.6% avaient un foie « normal » non stéatosique, sans inflammation ni ballonnisation,

-78% avaient une stéatose sans NASH, dont 3.9% avaient des hépatocytes ballonnés isolément,

-15,7% avaient une NASH, le score NAS était ≥ 5 pour 61.4% des cas, l'activité selon Bedossa était ≥ 2 pour 100% des cas. 38.6% des patients avaient une NASH survenant sur une foie avec une stéatose de grade 1 ou 2.

IV-2-1b Caractéristiques clinico-biologiques et marqueurs de morts

Les paramètres clinico-biologiques des patients répartis selon l'absence (groupe non NASH) ou la présence de NASH (groupe NASH) sont présentés dans le tableau IX.

Les paramètres significativement plus élevés lors de la NASH étaient les suivants :

- données cliniques : âge, tour de taille,
- fonction hépatique : ALAT,
- bilan insulinique : HOMA-IR, Adipose-IR, insuline,
- paramètres lipidiques : HDL- cholestérol (significativement moins élevé), triglycérides,
- le syndrome métabolique était plus significativement plus fréquent chez les NASH par rapport aux non NASH.

En comparant avec la cohorte de 857 patients, les mêmes paramètres étaient significativement différents chez les patients NASH par rapport aux patients non NASH, à l'exception de l'IMC et des acides gras libres qui étaient similaires.

Les marqueurs sériques d'apoptose, de mort cellulaire totale et de nécrose étaient significativement plus élevés lors de la NASH.

Les paramètres clinico-biologiques des patients répartis selon l'absence de stéatose (groupe Non NASH), la présence de stéatose sans NASH (groupe stéatose pure), et la présence de NASH (groupe NASH) sont présentés dans le tableau X.

Comme observé sur les 857 patients, les cas sans NAFLD avaient des valeurs d'ALAT, de marqueurs de l'insulino-résistance, du bilan lipidique, et la présence du syndrome métabolique, inférieures à celle observées chez les patients avec stéatose pure. Ces valeurs augmentaient significativement lors de la NASH par rapport à la stéatose pure.

Les marqueurs de mort totale et de nécrose étaient significativement plus élevés avec la stéatose, et s'élevaient encore avec la NASH. Le marqueur d'apoptose n'était pas significativement plus élevé avec la stéatose, mais avec la NASH uniquement.

Nous avons étudié les marqueurs de mort en fonction de la fibrose hépatique évaluée selon Brunt. Parmi tous les patients, les marqueurs de mort étaient significativement plus élevés chez les patients avec une fibrose ≥ 2 ($p < 0.05$). Il existait également une corrélation faible, mais statistiquement significative, entre les marqueurs de mort et le degré de fibrose ($p < 0.005$). Les marqueurs de mort totale et de nécrose ($r_s = 0.20$ et 0.18 respectivement) étaient mieux corrélés à la fibrose que le marqueur d'apoptose ($r_s = 0.15$).

Tableau VIII. Caractéristiques histopathologiques des 362 patients obèses morbides

	Total	Non NAFLD	Stéatose pure	NASH
N (%)	362	23 (6.4)	282 (77.9)	57 (15.7)
Stéatose n(%)				
0	23 (6.4)	23 (100)	-	-
1	147 (40.6)	-	143 (50.7)	4 (7)
2	95 (26.2)	-	77 (27.3)	18 (31.6)
3	97 (26.8)	-	62 (22)	35 (61.4)
Inflammation n(%)	57 (15.7)	0	0	57 (100)
1		-	-	55 (96.5)
2		-	-	2 (3.5)
Ballonnisation n	68 (18.8)	0	11 (3.9)	57 (100)
1		-	11 (3.9)	55 (96.5)
2		-	0	2 (3.5)
NAS n(%)				
≤2	240 (66.3)	23 (100)	217 (77)	-
3-4	87 (24)	-	65 (23)	22 (36.6)
≥5	35 (9.7)	-	-	35 (61.4)
Activité n(%)				
0	294 (81.2)	23 (100)	271 (96.1)	-
1	11 (3)	-	11 (3.9)	-
≥ 2	57 (15.7)	-	-	57 (100)
Fibrose n(%)				
0	63 (17.4)	5 (21.7)	48 (17)	10 (17.5)
1a	141 (39)	9 (39.1)	112 (39.7)	20 (35.1)
1b	10 (2.8)	2 (8.7)	8 (2.8)	-
1c	64 (17.7)	2 (8.7)	53 (18.8)	9 (15.8)
2	67 (18.5)	5 (21.7)	52 (18.4)	10 (17.6)
3	17 (4.7)	-	9 (3.2)	8 (14)

Les résultats sont exprimés en nombre (pourcentage).

NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis, Stéatose, score NAS et fibrose évalué selon Kleiner, activité évaluée selon Bedossa.

Tableau IX. Données cliniques et biologiques des 362 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NASH

	Non NASH	NASH	p
N (F/H)	305 (277/28)	57(43/14)	<0.001
SM IDF n (%)	144 (47.2)	42 (73.7)	<0.001
Age (ans)	39.1 ± 10.9	44 ± 9.6	<0.05
IMC (kg/m²)	44.1 ± 4.8	45.4 ± 5.3	NS
Tour de taille (cm)	108.2 ± 34.5	127.6 ± 13.1	<0.0001
ALAT U/L	31.0 ± 21.1	54 ± 46.4	<0.0001
HOMA-IR	5.4 ± 4.0	10 ± 9.7	<0.0001
Adipose-IR	12.3 ± 9.0	18 ± 13.7	<0.0001
Insuline (mUI/L)	19.5 ± 13.7	30 ± 23.6	<0.0001
HDL (mmol/L)	1.5 ± 0.6	1.28 ± 0.4	<0.05
TG (mmol/L)	1.6 ± 0.8	2.26 ± 1.7	<0.0001
AGL (mmol/L)	0.6 ± 0.2	0.64 ± 0.3	NS
Marqueur apoptose (U/L)	232 ± 145	356 ± 268	<0.0001
Marqueur mort (U/L)	484 ± 311	809 ± 539	<0.0001
Marqueur nécrose (U/L)	252 ± 247	452 ± 381	<0.0001

Les résultats exprimés en moyenne ± écart-type.

F: Femme; H: Homme; IMC: Indice de Masse corporelle; SM IDF: syndrome métabolique selon la définition IDF; ALAT: Alanine Amino-transfèrase; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol; TG: triglycères; AGL: acides gras libres; NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

Tableau X. Données cliniques et biologiques des 362 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NAFLD et de NASH

	Total	Non NAFLD	Stéatose pure	NASH
N (F/H)	362 (320/42)	23 (23/0)	282(254/28)	57(43/14)
SM IDF n(%)	186 (51.4)	4 (17.4)	140 (49.6) *	42 (73.7) *\$
Age (ans)	39.5 ± 10.8	33 ± 8.44	39.1 ± 10.9 *	44 ± 9.6 *\$
IMC (kg/m²)	44.3 ± 4.9	42.9 ± 2.88	44.2 ± 5	45.4 ± 5.3
Tour de taille (cm)	118.4 ± 15.4	110.3 ± 8.9	117.1 ± 15.5 *	127.6 ± 13.1*\$
ALAT UI/L	33.8 ± 27.7	19.1± 7.7	31 ± 21.1 *	54 ± 46.4 *\$
HOMA-IR	6 ± 5.6	2.7 ± 1.6	5.4 ± 4 *	10 ± 9.7 *\$
Adipose-IR	12.8 ± 10	6.2 ± 4	12.3 ± 9 *	18 ± 13.7 *\$
Insuline (mUI/L)	21.8± 15.6	1.2± 6.9	20.9 ± 13.3 *	30 ± 23.6 *\$
HDL (mmol/L)	1.39 ± 0.4	1.61 ± 0.4	1.40 ± 0.3 *	1.28 ± 0.4 *\$
TG (mmol/L)	1.71 ± 1	1.12 ± 0.4	1.65 ± 0.9 *	2.26 ± 1.7 *\$
AGL (mmol/L)	0.60 ± 0.2	0.53 ± 0.2	0.59 ± 0.2	0.64 ± 0.3
Marqueur apoptose (U/L)	252 ± 176	211 ± 118	234 ± 147	356 ± 268 *\$
Marqueur mort (U/L)	535 ± 375	342 ± 154	496 ± 319 *	809 ± 538 *\$
Marqueur nécrose (U/L)	283 ± 281	131 ± 165	262 ± 250 *	453 ± 381 *\$

Les résultats exprimés en moyenne ± écart-type.

F: Femme; H: Homme; IMC: Indice de Masse corporelle; SM IDF: syndrome métabolique selon la définition IDF; ALAT: Alanine Amino-transferase; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance; CT: cholesterol total; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol; TG: triglycérides; AGL: acides gras libres; NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

IV-2-2 Recherche de marqueurs diagnostiques parmi les paramètres sériques dosables en routine et les marqueurs sériques de mort

La performance pour diagnostiquer une NAFLD et une NASH de l'ALAT, l'HOMA-IR, l'adipose-IR, l'insuline, l'HDL-c, des triglycérides et des marqueurs sériques d'apoptose, de mort totale et de nécrose est présentée dans le tableau IX.

IV-2-3a Recherche de marqueurs pour le diagnostic de NAFLD

Pour le diagnostic de stéatopathie métabolique, les paramètres de l'insulino-résistance (HOMA-IR et adipose-IR) avaient les valeurs d'aire sous la courbe ROC les plus élevées (0.77). La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives étaient comparables à celles décrites dans la cohorte de 857 patients. Les courbes ROC, qui représentent la sensibilité et la spécificité pour diagnostiquer la présence de stéatopathie métabolique (stéatose avec ou sans NASH), de l'ALAT et de l'HOMA-IR sont présentées dans la figure 3a.

IV-2-3b Recherche de marqueurs pour le diagnostic de NASH

La performance des marqueurs sériques de mort pour diagnostiquer la NASH est représentée par la valeur de l'aire sous la courbe ROC, présentée dans le tableau XI.

Les valeurs des AUROCs (Aire sous les courbes ROC) pour diagnostiquer la NASH étaient moins élevées pour les marqueurs de mort totale et de nécrose (0.70 et 0.68) que pour l'ALAT (0.72). La valeur diagnostique du marqueur d'apoptose était faible (0.60) (tableau XI).

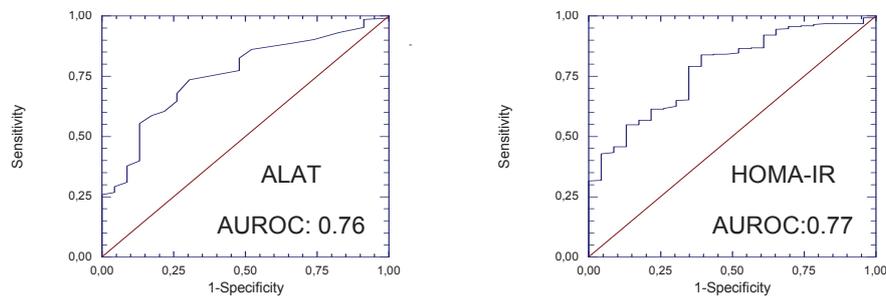
Les courbes ROC de l'ALAT et du marqueur de mort totale pour diagnostiquer la présence d'une NASH, sont présentées dans la figure 3b.

Utilisés isolément, les marqueurs sériques d'apoptose, de mort totale et de nécrose, ne sont pas de bons marqueurs de la NASH.

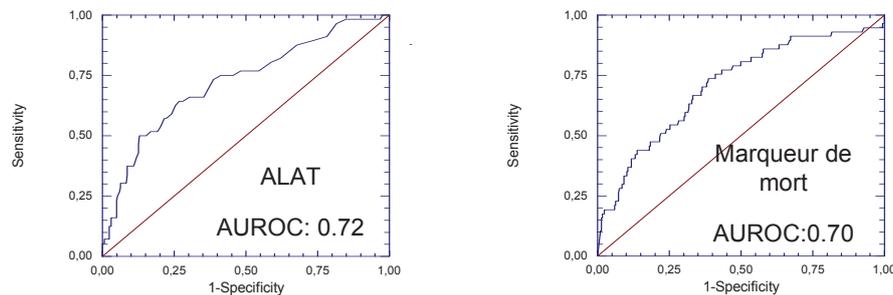
Tableau XI. Valeurs diagnostiques (AUROCs) pour la présence de NAFLD et de NASH (n=362)

AUROC	NAFLD	NASH
ALAT UI/L	0.76	0.72
HOMA-IR	0.77	0.69
Adipose-IR	0.77	0.65
Insuline (mUI/L)	0.74	0.65
HDL (mmol/L)	0.62	0.62
TG (mmol/L)	0.72	0.63
Marqueur apoptose (U/L)	0.58	0.60
Marqueur mort (U/L)	0.68	0.70
Marqueur nécrose (U/L)	0.70	0.68

Figure 3 : Courbes ROC pour le diagnostic de NAFLD et de NASH (n=362)



a : Courbes ROC pour le diagnostic de NAFLD de l'ALAT et de l'HOMA-IR (n=362)



b : Courbes ROC pour le diagnostic de NASH de l'ALAT et du marqueur de mort totale (M65: kératine18 totale) (n=362)

AUROC: aire sous la courbe ROC (receiver-operating characteristic) ; ALAT: Alanine Amino-transferase; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; TG: triglycérides; NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

IV.3 Analyse selon le degré de stéatose de la valeur des marqueurs clinico-biologiques et des marqueurs sériques de mort

IV-3-1 Valeurs de l'ALAT, l'HOMA-IR et des marqueurs sériques de mort selon le grade de stéatose

Pour expliquer le manque de performance de ces marqueurs, nous avons étudié la valeur de l'ALAT, de l'HOMA-IR et des marqueurs sériques de mort, en fonction du grade de stéatose sur 362 patients.

Nous avons dans chacun des deux groupes Non NASH et NASH, classés les patients selon leur grade de stéatose (S0, 1, 2 et 3) (figure 4 et 5). A partir des données histopathologiques précédemment décrites (tableau VIII), il y avait parmi les patients sans NASH, 23 S0, 143 S1, 77 S2 et 62 S3. Les 23 patients S0 et sans NASH correspondent au sous groupe sans NAFLD. Tous les patients NASH avaient un foie stéatosique : on identifiait 4 S1, 18 S2, et 35 S3 (tableau VIII).

Dans chacun de ces sous groupes les valeurs de l'HOMA-IR, de l'ALAT, du marqueur d'apoptose, du marqueur de mort totale et du marqueur de nécrose ont été calculées. Ces données sont représentées sous la forme de boîtes à moustaches (box plot) (figure 4 et 5). La valeur médiane des différents paramètres est donnée par la ligne à l'intérieur de chaque boîte.

Il n'y avait pas de différence significative des valeurs des marqueurs sériques de mort entre les patients avec une stéatose de haut grade sans NASH (S2 et S3), et les patients NASH mais avec un faible grade de stéatose (S1 NASH et S2 NASH).

De plus, les valeurs médianes de l'HOMA-IR, ALAT (figure 4), et des marqueurs de mort totale et de nécrose (figure 5) étaient plus élevées

-dans le sous groupe S3 sans NASH (6, 41, 549, 330 respectivement) que dans les sous groupes S1NASH (4, 20, 358, 142) et S2 NASH (6,28, 496, 311).

-dans le sous groupe S2 sans NASH (5, 26,489, et 280 respectivement) que dans le sous groupe S1 NASH.

IV-3-2 Corrélation selon le grade de stéatose

Dans chaque groupe (Non NASH et NASH), les valeurs de l'ALAT, de l'HOMA-IR et des marqueurs sériques de mort ont été corrélées au grade de stéatose.

L'HOMA-IR était faiblement corrélé au grade de stéatose en l'absence de NASH ($r_s=0.311$), et n'était pas corrélé au grade de stéatose lors de la NASH. La seule différence significative de la valeur de l'HOMA-IR était observée dans le groupe non NASH, entre une stéatose de grade 2 et une stéatose de grade 3 (figure 4a).

Les valeurs de l'ALAT et des différents marqueurs sériques de mort étaient significativement corrélées au grade de stéatose, qu'il y ait ou non de la NASH (figure 4 et 5).

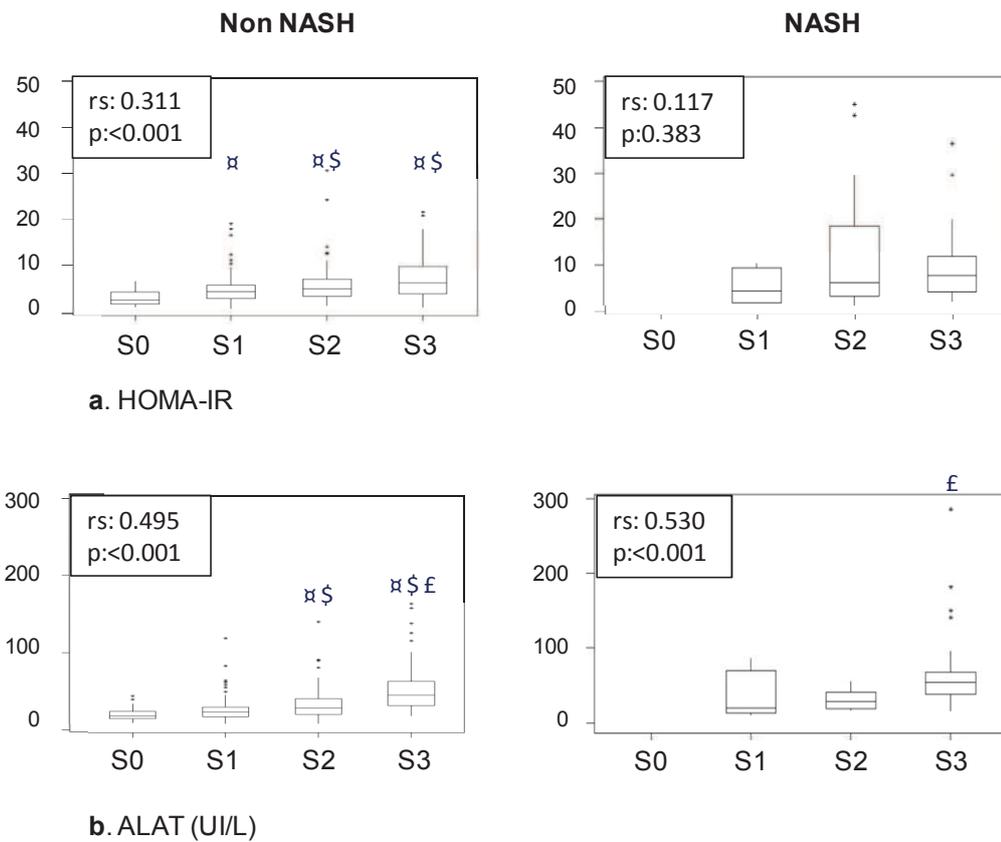
Dans le groupe non NASH, dès la présence de stéatose, la valeur de l'ALAT augmentait significativement pour chaque grade de stéatose. Lors de la NASH la différence de la valeur d'ALAT était significative uniquement entre les grades 2 et 3 (figure 4b).

Le marqueur d'apoptose était très faiblement corrélé au grade de stéatose en l'absence de NASH ($r_s : 0.117$). Lors de la NASH, la corrélation du marqueur d'apoptose avec le grade de stéatose était meilleure ($r_s : 0.513$). La seule différence significative du marqueur d'apoptose était observée entre les patients S2 NASH et S3 NASH (figure 5a).

Le marqueur de mort totale était mieux corrélé à la stéatose lorsqu'il y avait de la NASH (figure 5b) alors que la corrélation du marqueur de nécrose était identique qu'il y ait ou non de la NASH (figure 5c). En l'absence de NASH le marqueur de mort totale et le marqueur de nécrose augmentaient avec une stéatose de grade 2. Ces 2 marqueurs augmentaient avec une stéatose de grade 3 qu'il y ait de la NASH ou non (figure 5b et 5c).

Nous montrons que la valeur des marqueurs sériques de mort était corrélée positivement au grade de stéatose, avec ou sans NASH. Il existait aussi un chevauchement de ces marqueurs entre une stéatose majeure sans NASH et une stéatose de faible intensité avec NASH.

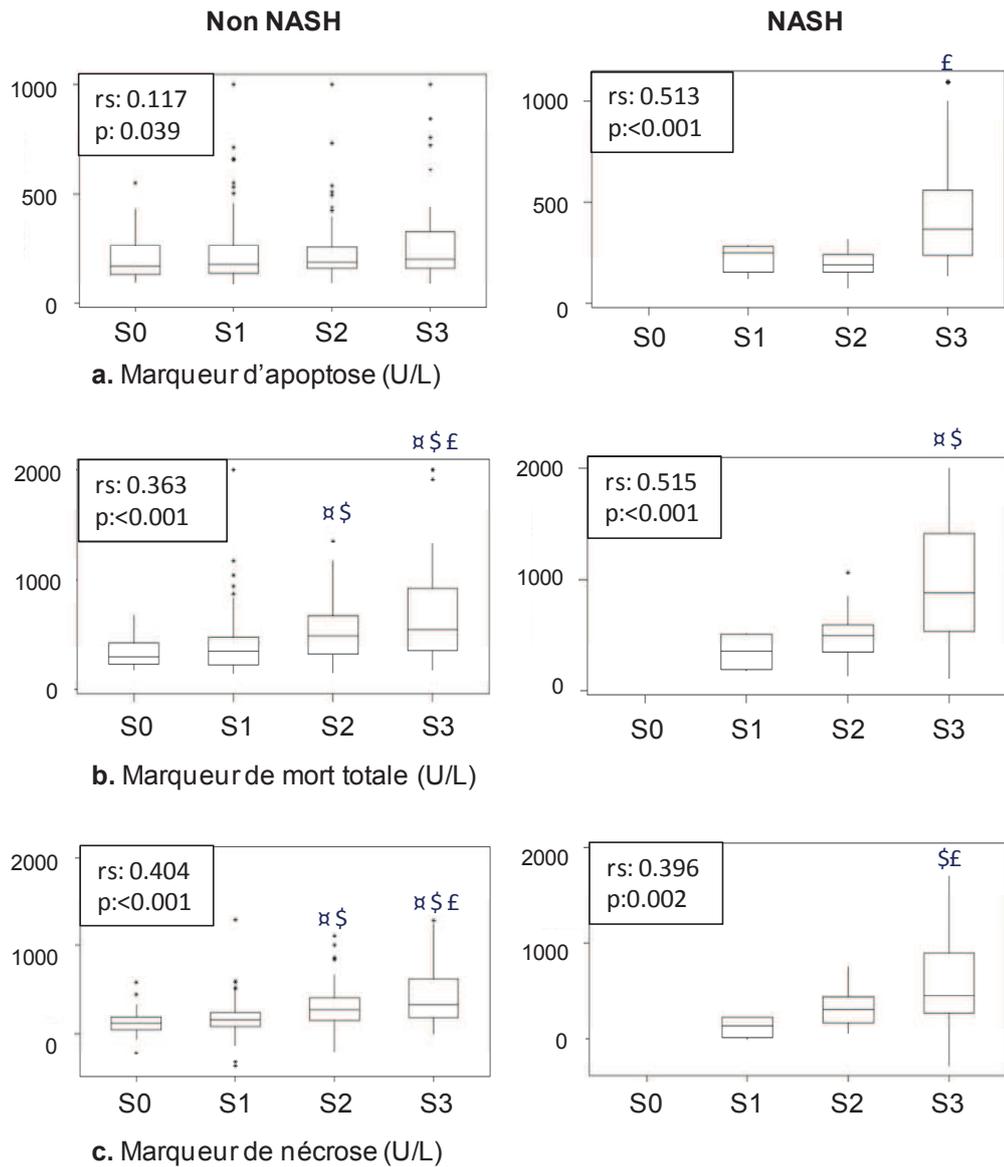
Figure 4. Marqueurs potentiels de NASH: valeurs selon le grade de stéatose et corrélation (n=362)



Les valeurs médianes, représentées par la ligne horizontale à l'intérieur de chaque boîte, de l'ALAT et de l'HOMA-IR sont présentées dans chaque groupe (Non NASH et NASH) selon le grade de stéatose (S0 à S3).

ALAT: Alanine Amino-transferase; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance; Apoptotic marker: M30; cell death marker: M65; Necrotic marker: M65-M30
rs: Corrélation selon rand de Spearman, α $p < 0.05$ par rapport à S0, $\$$ $p < 0.05$ par rapport à S1, £ $p < 0.05$ par rapport à S2

Figure 5. Marqueurs potentiels de NASH: valeurs selon le grade de stéatose et corrélation (n=362)



Les valeurs médianes, représentées par la ligne horizontale à l'intérieur de chaque boîte, des marqueurs sériques de mort (marqueur d'apoptose, de mort totale et de nécrose) sont présentées dans chaque groupe (Non NASH et NASH) selon le grade de stéatose (S0 à S3).

ALAT: Alanine Amino-transférase; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance; Apoptotic marker: M30; cell death marker: M65; Necrotic marker: M65-M30
 rs: Corrélation selon rand de Spearman, α $p < 0.05$ par rapport à S0, \$ $p < 0.05$ par rapport à S1, £ $p < 0.05$ par rapport à S2

IV-3-3 Valeurs de l'ALAT, l'HOMA-IR et des marqueurs sériques de mort pour un même grade de stéatose selon la présence ou non de NASH

Nous avons pour un même grade de stéatose, évalué la valeur de l'HOMA-IR, l'ALAT et des marqueurs sériques de mort selon la présence ou non de NASH (tableau XII).

Pour une stéatose d'intensité faible (S1) ou modérée (S2), l'ALAT et les marqueurs de mort n'étaient pas significativement augmentés lors de la NASH. Seul l'HOMA-IR pour une stéatose modérée (S2) augmentait significativement avec la NASH.

Lorsque le foie présentait une stéatose sévère (S3), l'HOMA-IR, l'ALAT, les marqueurs d'apoptose et de mort totale augmentaient significativement avec la NASH. Le marqueur de nécrose augmentait avec la NASH, mais pas de manière significative.

Les marqueurs sériques de mort augmentaient significativement avec la NASH uniquement quand celle-ci survenait sur un foie avec une stéatose sévère.

Tableau XII. Valeurs de l'HOMA-IR, l'ALAT et des marqueurs sériques de mort selon la présence ou non de NASH pour un même grade de stéatose (n=362)

	S1		
	Non NASH	NASH	p
HOMA-IR	4.5 ± 3	3.2 ± 1.6	NS
ALAT UI/L	23.6 ± 12.4	34 ± 35	NS
Marqueur apoptose (U/L)	222.4 ± 132.6	228.2 ± 72.1	NS
Marqueur mort (U/L)	394.1 ± 231.6	356.1 ± 166.8	NS
Marqueur nécrose (U/L)	182.1 ± 221.6	127.9 ± 115.8	NS

	S2		
	Non NASH	NASH	p
HOMA-IR	5.7 ± 4.5	12.8 ± 13.7	0.0002
ALAT UI/L	30.8 ± 19.1	30.2 ± 13.8	NS
Marqueur apoptose (U/L)	229.9 ± 141.8	194.3 ± 64.4	NS
Marqueur mort (U/L)	533.3 ± 272.4	511.7 ± 232.6	NS
Marqueur nécrose (U/L)	303 ± 238.6	317.3 ± 191.7	NS

	S3		
	Non NASH	NASH	p
HOMA-IR	7 ± 4.7	9.4 ± 7.3	<0.05
ALAT UI/L	48.2 ± 28.8	67.9 ± 52.5	<0.05
Marqueur apoptose (U/L)	265 ± 180.8	454.2 ± 300	0.0002
Marqueur mort (U/L)	682.5 ± 434.3	1013.2 ± 576.9	0.0002
Marqueur nécrose (U/L)	414.3 ± 309.5	550.7 ± 425.8	NS

Les résultats exprimés en moyenne ± écart-type.

Les valeurs des paramètres sont exprimés pour un même grade de stéatose selon la présence ou non de NASH.

HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance; ALAT: Alanine Amino-transferase.

IV.4 Elaboration et analyse de modèles diagnostiques de NASH

Afin de définir un meilleur test pour prédire la NASH, nous avons réalisé des modèles associant les paramètres significativement différents en analyses multi variées. Les variables incluses dans les analyses multivariées étaient celles qui étaient significativement différentes en analyse univariée et non redondantes entre elles.

A partir de ces analyses multivariées, plusieurs modèles ont été construits par régression logistique, utilisant les facteurs prédictifs indépendants.

Les différentes valeurs AUROCs de ces modèles sont présentées dans le tableau XIII. Les meilleures valeurs étaient obtenues avec les deux modèles incluant le marqueur sérique de mort totale.

Le premier modèle incluait l'âge, l'ALAT, l'Adipose-IR, et le marqueur de mort totale. La performance diagnostique de ce modèle est présentée dans la figure 6. La valeur de l'aire sous la courbe ROC était supérieure à celle des valeurs des différents paramètres utilisés isolément (0.79).

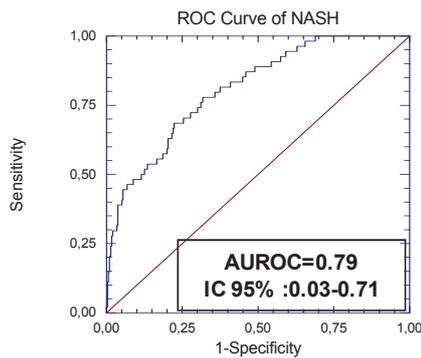
Le second modèle incluait l'âge, le tour de taille, l'HOMA-IR et le marqueur de mort totale. La performance de ce modèle était bonne, avec une aire sous la courbe ROC à 0.81. En utilisant un seuil à -1.92, la sensibilité était de 76% et la spécificité de 69% (figure 7).

L'utilisation individuelle des marqueurs de mort cellulaire ne permettait pas un bon diagnostic de la NASH. Leur utilisation dans un score permettait une meilleure prédiction de la NASH et améliorait la performance diagnostique des modèles construits sans le marqueur de mort totale.

Tableau XIII. Performance de différents modèles pour le diagnostic de NASH (n=362)

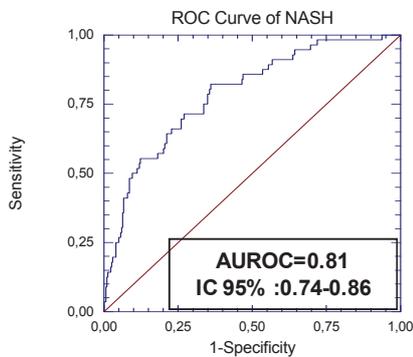
AUROC	NASH
ALAT-SM	0.73
ALAT-HOMAIR	0.74
ALAT-AdiposeIR	0.76
Marqueur de mort totale-AdiposeIR-Âge-ALAT	0.79
Âge-TT-HOMA-IR-Marqueur de mort totale	0.81

Figure 6. Valeur diagnostique du Modèle 1 pour le diagnostic de NASH : Age, ALAT, adipose-IR, marqueur de mort totale



Valeurs seuils pour le diagnostic de NASH		
Modèle 1	Se	Sp
-1,77	0,71	0,73
-1,93	0,75	0,66
-2,26	0,86	0,53

Figure 7. Valeur diagnostique du Modèle 2 pour le diagnostic de NASH : Âge, tour de taille, HOMA-IR, marqueur de mort totale



Valeurs seuils pour le diagnostic de NASH		
Modèle 2	Se	Sp
-1,77	0,70	0,75
-1,92	0,76	0,69
-2,4	0,87	0,54

OR: odds ratio; IC: intervalle de confiance; AUROC: aire sous la courbe ROC (receiver-operating characteristic); Se: sensibilité, Sp: spécificité; ALAT: Alanine Amino-transferase; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; TG: triglycérides; M65: CK18 totale; TT: tour de taille; SM IDF: syndrome métabolique selon la définition IDF; NASH: Non Alcoholic Steato-Hepatitis

V DISCUSSION

La prévalence des stéatopathies métaboliques (NAFLD) est en augmentation constante à l'échelle mondiale en raison de l'augmentation du nombre de cas d'obésité et d'insulino-résistance. Le pronostic de la maladie est corrélé à la présence ou non de stéatohépatite. La stéatose pure est considérée comme bénigne. La NASH peut quant à elle évoluer vers la fibrose, la cirrhose, voire le carcinome hépato cellulaire. La biopsie hépatique reste actuellement la méthode de référence pour évaluer l'atteinte hépatique. Cependant de nouveaux marqueurs non invasifs de la mort hépatocytaire ont été proposés comme prédictifs de la NASH. L'objectif principal de ce travail était de caractériser l'état hépatique d'une cohorte (n=857) de patients obèses morbides et d'évaluer l'intérêt diagnostique de marqueurs clinico-biologiques dosés en routine mais également des marqueurs sériques de mort cellulaire (sur un sous-groupe de 362 patients) afin de diagnostiquer la présence d'une NAFLD ou d'une NASH.

V.1 Principaux résultats

L'analyse de notre cohorte reflète probablement l'histoire naturelle des stéatopathies métaboliques, et met en relief un sous-groupe de patients sans atteinte hépatique. Ces patients obèses avec un « foie normal » à l'histologie ont un profil biologique particulier, sans insulino-résistance.

Nous montrons également que l'ALAT et les marqueurs sériques de mort (totale, apoptose et nécrose) n'ont pas une performance suffisante pour le diagnostic non invasif de NASH.

Afin de comprendre pourquoi les marqueurs de mort cellulaire, les marqueurs d'insulino-résistance et l'ALAT n'étaient pas très discriminants isolément, nous avons étudié leurs valeurs selon le grade de stéatose. Nous avons montré que les valeurs de l'ALAT, de l'HOMA-IR et des marqueurs de mort cellulaire augmentaient avec la sévérité de la stéatose chez les patients sans et avec NASH. Les niveaux de ces marqueurs chez les patients avec une NASH et une stéatose légère ou modérée étaient proches des niveaux présents chez des patients non NASH avec une stéatose modérée ou sévère. Lorsque la stéatose est légère ou modérée, les

marqueurs de mort n'augmentent pas significativement avec la NASH. Le diagnostic non invasif de la NASH est donc difficile dans les cas où la NASH survient sur une stéatose de faible intensité (42.9%).

Afin d'améliorer le diagnostic non invasif de NASH, nous proposons deux nouveaux modèles performants, intégrant la valeur du marqueur sérique de mort totale.

V.2 Patients obèses morbides métaboliquement sains

Dans notre cohorte de 857 obèses morbides, la prévalence de patients sans atteinte hépatique était de 8 %. Ces patients présentaient un profil un métabolique « sub-normal ».

En effet, les valeurs des paramètres du bilan hépatique, lipidique et insulinique étaient significativement moins élevées chez ces patients que chez les autres patients (avec une stéatose seule ou une NASH) et étaient proches des limites normales supérieures habituellement admises dans la population générale. Seule la CRP était déjà significativement augmentée chez ces patients par rapport à la population générale. Les niveaux de CRP étaient similaires entre les différents groupes de patients (« foie normal », stéatose isolée et NASH).

Cette population d'obèses morbides est rapportée dans la littérature scientifique anglophone sous le terme de « metabolically healthy but obese » (MHO) ou patients « obèses métaboliquement sains ». Ils constituent chez les obèses un sous groupe dont la prévalence varie de 10 à 40%. Ils présentent un profil métabolique favorable et ne présenteraient pas d'augmentation du risque de maladies cardio vasculaires ou de cancer [55]. La définition d'un patient obèse métaboliquement sain n'est pas standardisée. C'est la détermination de la sensibilité à l'insuline qui est utilisée pour diagnostiquer les patients obèses. L'index HOMA-IR reflète l'insulino-résistance générale, et bien que le seuil ne soit pas clairement défini, on utilise le plus souvent un seuil à 3 pour l'insulino-résistance.

Il faut souligner que parmi les patients métaboliquement sains certains peuvent présenter de la stéatose. Dans notre étude, les patients ont été classés selon le degré d'atteinte hépatique, sans tenir compte du profil métabolique. Des patients « métaboliquement sains », comme décrits dans la littérature ont donc été

classés parmi les patients avec une stéatose pure. Ceci expliquerait la prévalence de ces patients plus faible dans notre étude que dans celles rapportées.

L'étude de ce sous-groupe permet de mettre à l'épreuve les connaissances actuelles des stéatopathies métaboliques, et notamment le rôle du tissu adipeux viscéral et de l'insulino-résistance.

Le tour de taille, reflet du tissu adipeux viscéral, était significativement plus bas chez ces patients par rapport aux patients avec une NASH (116.8 ± 13.3 vs 126.5 ± 14.5 cm, $p < 0.0001$) et avait une tendance à être plus bas par rapport aux patients avec une stéatose pure (116.8 ± 13.3 vs 119.4 ± 13.9 cm, $p = 0.145$). Dans la littérature, plusieurs études suggèrent que les patients métaboliquement sains accumuleraient moins de graisse viscérale[56, 57]. Cette observation est faite chez des patients en surpoids ou obèses, pour un IMC équivalent. Dans notre cohorte de 857 patients, l'IMC était légèrement inférieur entre les patients sans atteinte hépatique et les autres ($41,9 \pm 3,4$ vs $43,4 \pm 5,2$ kg/m² chez les Non NASH ; $p < 0,05$ et $44,3 \pm 5,7$ kg/m² chez les NASH, $p < 0,001$). Les mécanismes expliquant pourquoi certains obèses morbides sont métaboliquement sains ne sont pas encore élucidés. La persistance d'une sensibilité à l'insuline pourrait préserver le tissu adipeux périphérique de la lipolyse excessive, limitant le stockage ectopique d'acides gras dans le tissu adipeux viscéral et le foie. Il se pourrait que l'adipogénèse et la capacité de stockage des acides gras par le tissu adipeux périphérique soit meilleure chez les patients métaboliquement sains. Etant donné que l'expansion du tissu adipeux viscéral favorise l'insulino-résistance, les patients capables de stocker les graisses dans le tissu adipeux périphérique surtout dans la partie inférieure du corps seraient protégés de l'insulino-résistance[58].

Comme attendu, les marqueurs de souffrance hépatique étaient significativement moins élevés chez les patients ne présentant pas de lésion hépatique histologique. Il a été rapporté que les niveaux de transaminases (ALAT, ASAT) et de γ GT étaient moins élevés parmi les patients obèses métaboliquement sains que parmi les patients obèses avec un niveau d'insulino-résistance plus élevé [59, 60].

Nous avons étudié la capacité de marqueurs biologiques de l'insulino-résistance à prédire l'absence de lésion hépatique (stéatose pure ou NASH). Pour exclure le diagnostic de stéatopathie métabolique, l'HOMA-IR et l'adipose-IR

pourraient être de bons marqueurs, les stéatopathies métaboliques étant la manifestation hépatique de l'insulino-résistance. Il n'a pas été proposé de modèle utilisant les marqueurs de l'insulino-résistance pour éliminer la présence de NAFLD dans la littérature. Dans notre étude, les valeurs de l'aire sous la courbe ROC de l'HOMA-IR et de l'adipose-IR étaient de 0.78 et 0.74 respectivement. L'HOMA-IR avait une bonne capacité à prédire une NAFLD. En pratique, une valeur supérieure à 3 s'accompagnera souvent d'une stéatopathie métabolique (stéatose pure ou NASH), mais une valeur inférieure à 3 n'en éliminera pas totalement la présence (Se : 0.76, Sp : 0.61, VPP : 0.96, VPN : 0.18).

Sur un petit nombre de ces patients métaboliquement sains (n=23), les marqueurs de mort sériques ont été dosés. La capacité à diagnostiquer la présence de lésions hépatiques des marqueurs de mort cellulaires a été évaluée sur 362 patients. Ces marqueurs ne permettent pas de discriminer les patients sans atteinte hépatique. Les marqueurs de mort totale et de nécrose avaient une valeur d'AUROC faible (0.68 et 0.70), mais supérieure à celle du marqueur de l'apoptose (0.58).

V.3 Recherche de marqueurs diagnostiques de NASH

La majorité des paramètres clinico-biologiques étudiés chez les patients avec ou sans NASH était augmentée lors de la NASH.

Le poids, l'IMC, le tour de taille, la dépense énergétique, les éléments du bilan insulinique et lipidique (triglycérides et acides gras libres) étaient significativement augmentés avec la NASH, et l'HDL-cholestérol était moins élevé. Parmi les éléments du bilan hépatique, l'ASAT, l'ALAT, les γ GT étaient significativement augmentés avec la NASH.

Curieusement la masse grasse n'était pas augmentée chez les patients qui avaient une NASH. Nous ne pouvons pas mesurer la répartition des différents compartiments graisseux (abdominal et périphérique) comme cela peut être obtenu avec un système DEXA. La masse grasse totale évaluée par l'impédancemétrie bioélectrique reflète essentiellement la graisse sous cutanée qui représente 80% de la graisse totale chez les patients obèses morbides. L'absence de lien entre la présence d'une NASH et la quantité totale de masse grasse pourrait être le reflet du manque de discrimination de la graisse abdominale par l'impédancemétrie chez ces patients. Le TP et la bilirubine n'étaient pas augmentés, la grande majorité des

patients NASH n'étant pas au stade d'insuffisance hépatique. Enfin, la CRP ne discriminait pas les patients NASH. Il existe une inflammation chronique de bas grade chez les patients obèses, qui est reflétée par la CRP qui augmente en fonction du BMI comme cela a déjà été montré [34, 36].

L'ALAT est un paramètre dosé en routine qui reflète la souffrance hépatique. La norme des ALAT a été définie à partir de donneurs de sang dans les années 80. Or, cette population considérée comme saine, comportait des patients porteurs du virus de l'hépatite C, ainsi que des personnes en surpoids ou obèses. Il a donc été proposé une réévaluation du seuil normal de l'ALT. Une étude sur 7044 donneurs de sang propose un seuil de 30 UI/L pour les hommes et 19 UI/L pour les femmes (seuils antérieurs à 40 UI/L pour les hommes et 30 UI/L pour les femmes)[61]. Dans les stéatopathies métaboliques, l'application de ce nouveau seuil n'a pas fait preuve de son efficacité pour prédire la NASH [62]. Dans notre étude, l'utilisation d'un seuil à 0.5N améliore la sensibilité par rapport au seuil utilisé en routine mais montre une spécificité et une valeur prédictive positive insuffisantes. En pratique, si la valeur d'ALAT est inférieure à 0.5N, le patient a peu de risque de présenter une NASH. En revanche, une valeur supérieure ou égale à 0.5N ne différencie pas un patient avec une stéatose pure versus un patient avec un NASH. Cependant, nous avons montré que les patients NASH avec une valeur d'ALAT inférieure à 0.5N étaient significativement plus insulino-résistants que les patients sans NASH. L'association de la valeur de l'ALAT et du marqueur d'insulino-résistance HOMA-IR permettait d'améliorer la prédiction diagnostique. Ainsi, dans notre cohorte de patients obèses morbides, une valeur d'ALAT inférieure à 0.5N et un HOMA-IR inférieur à 2.5 permet d'exclure le diagnostic de NASH avec une sensibilité de 100%.

L'adipose-IR est calculé par le produit de l'insulinémie et des acides gras libres et reflèterait l'insulino-résistance périphérique, particulièrement du tissu adipeux. Sur la cohorte des 857 patients, la valeur de l'aire sous la courbe ROC de l'Adipose-IR pour prédire la NASH était à 0,7 avec une valeur prédictive positive et une spécificité qui étaient faibles. Ces résultats sont concordants avec ceux récemment rapportés par une équipe américaine qui a montré que l'adipose-IR n'était pas bien corrélée avec le grade de stéatose et d'inflammation chez 207 patients obèses. Le seuil d'adipose-IR pour observer des effets hépatiques serait bas, et ne permettrait pas de discriminer les NASH parmi les NAFLD [63].

Les marqueurs sériques de mort (apoptose, mort cellulaire totale et nécrose) étaient augmentés significativement avec la NASH. Les marqueurs de mort totale et de nécrose étaient augmentés dès le stade de stéatose. Le fragment clivé de la kératine 18, qui reflète l'apoptose, n'était significativement augmenté que lors de la NASH. Dans l'étude de Feldstein, la kératine 18 clivée est un marqueur prédictif indépendant de la NASH [31, 64]. Dans notre étude, le marqueur d'apoptose a la valeur d'aire sous la courbe ROC la plus faible (0.60). Le marqueur d'apoptose était aussi corrélé à la fibrose dans notre cohorte ($r_s=0.15$, $p<0.005$). Il se pourrait donc que la fibrose joue un rôle sur la capacité du marqueur d'apoptose à prédire la NASH. Il se pourrait aussi que cette faible performance soit due à la population étudiée. La plupart des études rapportant la kératine 18 clivée comme un marqueur prédictif de NASH a été réalisée sur des patients obèses. Nous avons travaillé sur une cohorte de patients obèses morbides. Dans l'étude de Tamimi[65], la valeur d'AUROC du marqueur d'apoptose était de 0.86 sur les obèses (cohorte d'évaluation) et diminuait à 0.77 sur les obèses morbides (cohorte de validation). Une autre étude réalisée sur des patients obèses morbides rapporte une valeur d'aire sous la courbe ROC de 0.71 pour le marqueur d'apoptose, alors que le marqueur de mort totale a une valeur d'AUROC de 0.81 [66]. D'après nos résultats sur les obèses morbides, les marqueurs de nécrose et de mort totale seraient les meilleurs témoins de la NASH.

V.4 Rôle de la stéatose dans l'évaluation des stéatopathies métaboliques

Nous avons tenté d'expliquer pourquoi les marqueurs sériques de mort pris isolément n'étaient pas capables de prédire la NASH dans notre étude. Les patients avec une stéatose importante auraient plus de risque d'évoluer vers la NASH. Cependant, certains (42.9%) patients présentent une NASH avec une stéatose de faible intensité.

Nous avons donc voulu déterminer la corrélation entre les marqueurs sériques de mort et le grade de stéatose. D'après ce que nous avons observé, ces paramètres ne sont pas différents entre une stéatose marquée sans NASH et une NASH avec stéatose de faible intensité. Pour une stéatose de grade 2, la valeur du marqueur de mort totale était de 533.3 ± 272.4 U/L sans NASH et de 511.7 ± 232.6 U/L avec NASH ($p=0.756$, tableau XII). Pour qu'un marqueur soit efficace pour prédire la

NASH, il faudrait qu'il augmente lors de la NASH, indépendamment du degré de stéatose. Tous les paramètres (les marqueurs de mort cellulaire mais aussi l'ALAT et l'HOMA-IR) que nous avons étudiés sont corrélés au grade de stéatose en l'absence de NASH. Ils ne permettent donc pas de discriminer une stéatose sévère sans NASH, d'une stéatose légère avec NASH. Aucune étude n'a préalablement rapporté la valeur de ces marqueurs selon le grade de stéatose.

Le sous-groupe de patients avec une NASH survenant sur un foie peu stéatosique n'a pas été étudié. Nous montrons que chez les patients avec une stéatose d'intensité faible ou modérée, les marqueurs de mort ne sont pas significativement augmentés avec la NASH. Ils augmentent de manière significative uniquement chez les patients S3 NASH par rapport aux patients S3 sans NASH.

Lors de l'obésité, le tissu adipeux et le tube digestif, par le biais du microbiote intestinal et des cellules immunitaires, participeraient aux lésions hépatiques. Lorsque la capacité de stockage des adipocytes est dépassée, le tissu adipeux est infiltré de macrophages entraînant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Cette inflammation favorise l'insulino-résistance et la lipolyse. De même, l'obésité serait associée à une augmentation de la perméabilité de la barrière digestive, responsable d'une augmentation de l'endotoxémie. La libération d'acides gras libres et de cytokines inflammatoires par le tissu adipeux, et l'endotoxémie due au tube digestif entraîneraient sur un foie stéatosique une inflammation, une souffrance hépatocytaire, évoluant vers la fibrose. La stéatose fragiliserait les hépatocytes, les rendant plus sensibles à l'action de ces différents facteurs[67]. Néanmoins, la stéatose pourrait dans un premier temps ou de façon prolongée chez certains patients être protectrice. L'inhibition de la synthèse des triglycérides sur un modèle murins de NASH diminue la stéatose mais augmente la nécrose, l'inflammation et la fibrose hépatique par rapport aux souris développant une stéatose [68]. La NASH pourrait survenir lorsque l'afflux d'acides gras libres dépasserait les capacités d'estérification en triglycérides ou de stockage de l'hépatocyte. En d'autres termes, la NASH surviendrait lorsque la stéatose, mécanisme protecteur, serait dépassée.

Comme nous le rapportons, la NASH peut néanmoins survenir sur un parenchyme hépatique peu stéatosique. Nous pouvons envisager que la capacité de stockage des acides gras en triglycérides serait plus faible chez ces patients. La lipotoxicité responsable de la NASH surviendrait sur un grade de stéatose plus faible.

Au delà d'un certain seuil variable entre chaque individu, la stéatose ne pourrait pas augmenter et les acides gras libres non estérifiés augmenteraient l'inflammation hépatique. Chez la plupart des patients, la NASH apparaîtrait après saturation des capacités maximales de formation d'une stéatose (NASH chez les patients S3). Dans d'autres cas, les capacités maximales de stockage seraient plus vite atteintes. Il serait intéressant d'étudier le profil biologique (en particulier métabolique) et le profil génétique de ces patients dont la capacité de stockage des acides gras libres hépatiques est plus faible. Enfin chez les patients avec une stéatose de grade 1 ou 2, pour un même grade de stéatose, l'ALAT et les marqueurs de morts ne sont pas augmentés significativement lors de la NASH. Il est donc nécessaire pour ce groupe particulier de déterminer quels marqueurs sont augmentés avec la NASH.

Les études d'association pan génomiques (genomicwide association studies : GWAS) récentes ont montrées qu'il existerait un déterminisme génétique dans le spectre des NAFLD. Plusieurs études ont identifié des variations génomiques lors des différentes lésions observées dans les stéatopathies métaboliques [69]. Il a été montré que le gène PNPLA3 serait impliqué dans les différents stades évolutifs des NAFLD. La première étude, réalisée sur 2111 patients d'origines ethniques différentes, a montré que la présence de l'allèle I148 du gène PNPLA3 était fortement associé à la stéatose hépatique, évaluée par imagerie [70]. D'autres études ont également rapporté une forte association avec l'augmentation des transaminases et la NASH. Une étude réalisée sur 592 patients avec NASH prouvée histologiquement rapporte cette association [71]. L'association du gène PNPLA3 avec la fibrose, évaluée histologiquement, a également été rapportée sur 894 adultes et 223 enfants [72]. Le gène PNPLA3 code pour une protéine participant à la lipolyse du tissu adipeux, ce qui favorise l'afflux d'acides gras libres vers le foie. Cependant, son rôle précis chez l'homme reste à définir. Ce gène est exprimé par les hépatocytes et favoriserait la lipogénèse hépatique [73]. La détermination du rôle de ce gène dans les hépatocytes pourrait apporter un éclaircissement sur les capacités maximales de stockage des triglycérides. Ce polymorphisme génétique pourrait expliquer pourquoi la stéatose est dépassée à des degrés différents selon les individus.

V.5 Proposition de nouveaux modèles diagnostiques de NASH

Nous avons élaboré plusieurs modèles pour le diagnostic de NASH, sur notre cohorte de 362 patients. Nous montrons que l'intégration du marqueur de mort totale améliore la performance diagnostique lorsqu'il est associé à d'autres paramètres clinico-biologiques dans 2 modèles.

En analyse multivariée, la kératine 18 totale, reflet de la mort cellulaire totale (apoptose et nécrose), était un marqueur indépendant du diagnostic de NASH. Isolément, la valeur de l'aire sous la courbe ROC pour prédire la NASH de la kératine 18 totale était de 0,70. Combiner ce marqueur à d'autres paramètres nous a permis d'améliorer cette performance diagnostique. Nous proposons 2 modèles prédictifs de NASH. Le premier modèle proposé incluait l'âge, l'ALAT, l'adipose-IR et le marqueur de mort totale. La valeur de l'aire sous la courbe ROC était de 0.79. Le second modèle incluait l'âge, le tour de taille, l'HOMA-IR et le marqueur de mort totale. La valeur de l'aire sous la courbe ROC était de 0.81. Ces deux modèles sont plus performants que les modèles élaborés sans les marqueurs de mort.

Dans la littérature, plusieurs modèles prédictifs de NASH ont déjà été proposés. Les valeurs AUROC des tests les plus pertinents varient de 0.76 à 0.90 [27]. Parmi ces tests, les plus récents intègrent le marqueur sérique d'apoptose. Depuis 2006, ce marqueur a été étudié sur plus de mille patients ayant une stéatopathie métabolique. Associé à d'autres paramètres, il améliore la capacité à prédire la NASH. Aucun des tests proposés n'a été validé, et la plupart sont élaborés à partir de cohortes incluant peu de patients. Enfin comme nous l'avons vu précédemment, certains sont réalisés sur des cohortes de patients obèses morbides [65, 66] .

Dans certains des tests proposés, le diagnostic de NASH était fait selon des critères différents de ceux que nous avons utilisés. Par exemple, la présence de fibrose sinusoidale sans stéatohépatite observée pouvait signer la NASH [66, 74, 75]. La plupart des études utilisent le score NAS, afin de diminuer la variabilité inter-observateur. Cependant, les auteurs de ce score rappellent dans un récent article que le diagnostic de NASH n'est pas toujours corrélé au score NAS [75]. Dans notre étude, il est intéressant d'observer que parmi les NASH diagnostiquées histologiquement, seulement 60% avaient un score $NAS \geq 5$. Le Nice Model dont les

valeurs AUROC étaient de 0.88 sur la cohorte d'estimation et 0.83 sur la cohorte de validation a été élaborée à partir du score $NAS \geq 5$. Des patients avec une stéatose de faible intensité, mais avec une NASH diagnostiquée histologiquement étaient inclus dans le groupe $NAS < 5$ [37].

Le NASH test a été élaboré en utilisant le NAS score. Il s'agit d'un test permettant de prédire les trois catégories du NAS score : $NAS < 2$ (absence de NASH), $NAS = 3-4$ (borderline, ou NASH probable) et $NAS \geq 5$ (NASH). La capacité à prédire la NASH diagnostiquée histologiquement a également été évaluée. Les valeurs d'AUROC pour diagnostiquer un score $NAS \geq 5$ et une NASH histologique n'étaient pas significativement différentes (0.79 et 0.78 respectivement). Cependant, la sensibilité et la spécificité du NASH test pour diagnostiquer la NASH histologique n'étaient pas rapportées. La sensibilité du NASH test était meilleure pour diagnostiquer un $NAS > 2$ (regroupant borderline et NASH) qu'un $NAS \geq 5$ (88% vs 33%) [38]. Cette faible performance à diagnostiquer la NASH par le NASH test est rapportée par Lassailly et al. Dans leur étude, le NASH test a été calculé sur une cohorte de 288 obèses morbides et sévères. Sur les 19 patients avec un score $NAS \geq 5$, seulement 4 avaient un NASH test positif [76]. Les auteurs soulignent que cette médiocre performance à diagnostiquer la NASH peut être due à la faible prévalence de NASH dans leur étude (6.9%) par rapport à celle de l'étude de Poynard et al. (17 et 36%) [38].

Ces différents scores doivent être évalués pour le suivi des patients obèses morbides en pratique clinique et doivent être validés chez les patients obèses et en surpoids.

VI CONCLUSION

Nous montrons que l'utilisation isolée de marqueurs sériques de mort hépatocytaire ne permet pas un meilleur diagnostic de la NASH que l'ALAT, utilisée en routine. Cependant, leur utilisation dans un score qui les associe à d'autres paramètres clinico-biologiques assure une meilleure prédiction et permettrait une réduction de l'indication de la biopsie hépatique pour le diagnostic de la NASH.

Déterminer les mécanismes par lesquels la stéatose, quelle que soit son intensité, est dépassée et ne joue plus son rôle hépato-protecteur permettrait d'identifier de nouveaux acteurs/marqueurs de la NASH. Ces mécanismes sont probablement sous l'influence complexe de multiples paramètres environnementaux et génétiques.

ANNEXES

ANNEXE : MARQUEURS NON INVASIFS DE STEATOSE

Table 1. Complex scores for predicting steatosis.

Author, [Ref.]	Score's name	N	Formula	Results	Validation
Poynard T et al., 2005, [17]	Steatotest	310 - training group 434 - 3 validation groups	Undisclosed formula incorporating: $\alpha 2$ -MG, haptoglobin, apolipoprotein A1, total bilirubin, GGT, fasting glucose, triglycerides, cholesterol, ALT, age, gender and BMI	AUROC 0.79 (steatosis >33%) 2 cut-offs: 0.3 and 0.72 - Se 90%, Sp 70%, PPV 63%, NPV 93%	In other French cohorts (total 494 patients) - similar results [18, 19]
Bedogni G et al., 2005, [20]	Fatty Liver Index (FLI)	216 patients 280 controls	$\left[e^{0.953 * \ln(\text{triglycerides}) - 0.037 * \text{BMI} - 0.718 * \ln(\text{ALT})} + 0.033 * \ln(\text{waist circumference (cm)}) \right] / \left(1 + e^{0.953 * \ln(\text{triglycerides}) - 0.037 * \text{BMI} - 0.718 * \ln(\text{ALT})} + 0.033 * \ln(\text{waist circumference (cm)}) \right) * 100$	AUROC 0.84 (steatosis by US) 2 cut-offs, <-30 for excluding and >60 for ruling - Se 87%, 86% Sp	Widely used in epidemiological studies
Kotronen A et al., 2009, [25]	NAFLD Liver Fat Score	313 - training group 157 - validation group	$-2.89 + 1.18 * (\text{metabolic syndrome} - \text{yes} = 1, \text{no} = 0) + 0.45 * (\text{type 2 diabetes mellitus} - \text{yes} = 1, \text{no} = 0) + 0.15 * (\text{fasting serum insulin, mIU/L}) + 0.04 * (\text{AST, IU/L}) - 0.54 * (\text{AST/ALT})$	AUROC 0.67 2 cut-offs, -1.413 and +1.257 - Se and Sp 95%	A Netherlands' group confirmed these results [26]
Bedogni G et al., 2010, [24]	Lipid Accumulation Product (LAP)	586 subjects	(waist circumference - 65) * triglycerides if men and (waist circumference - 58) * triglycerides if women	For each log unit increase, OR for steatosis 4.28	
Ballestri S et al., 2012, [32]	Ultrasonographic Fatty Liver Indicator (US-FLI)	53 patients	Brighter liver than kidney, whose intensity in contrast can be graded as mild/moderate (2 points) or severe (3 points). One extra point for each of the following: 1. Posterior attenuation of ultrasound beam, 2. Vessel blurring, 3. Difficult visualization of the gallbladder wall, 4. Difficult visualization of the diaphragm, 5. Areas of focal sparing	Score ≥ 2 - highly indicative of NAFLD Score ≥ 4 - predicts NASH: AUROC 0.796, NPV 94%, Se 46%	
	CT scores		1. Liver parenchyma attenuation (CT _{liver}), normal range - 50 to 57 Hounsfield Units (HU) 2. Liver to spleen attenuation difference (CT _{liver} - CT _{spleen}), normal range - 8 to 10 HU 3. Liver to spleen attenuation ratio (CT _{liver} /CT _{spleen})	CT _{liver} <40 HU - Se 52%, Sp 100% CT _{liver} >10 HU - Se 60%, Sp 100% CT _{liver} /CT _{spleen} >1.1 - Se 62%, Sp 100%	Several validations
Zardi EM et al., 2011, [67]	Zardi's US score	94 patients (retrospective)	Two parameters: 1. Echo amplitude attenuation scored from 0 if absent, 1 mild and 2 severe. 2. Presence/absence of focal fat sparing	Score ≥ 1 could - Se 92%, Sp 75%	

$\alpha 2$ -MG, alpha-2 macroglobin; GGT, gamma-glutamyltransferase; ALT, alanine aminotransferase; BMI, body mass index; AUROC, area under receiver operating characteristic; Se, sensitivity; Sp, specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; AST, aspartate aminotransferase; NASH, non-alcoholic steatohepatitis; HU, Hounsfield Units.

ANNEXE : MARQUEURS NON INVASIFS DE NASH

Table 2. Complex scores for predicting NASH.

Author, [Ref.]	Score's name	N	Formula	Results	Validation
Dixon JB et al., 2001, [101]	HAIR	105 morbid obese	1. Hypertension, 2. Increased ALT (>40 IU/L), 3. Insulin Resistance (index >5)	≥ 2 parameters: AUROC 0.90 Se 80%, Sp 89%	
Palekar NA et al., 2006, [102]	Palekar's Score	80 NAFLD patients	Score calculated by the sum of 6 risk factors: 1. Age ≥ 50 yr, 2. Female sex, 3. Elevated AST (≥ 45 IU/L), 4. BMI ≥ 30 kg/m ² , 5. AST/ALT ratio ≥ 0.8 , 6. Plasma levels of hyaluronic acid ≥ 5 μ g/L	≥ 3 factors: AUROC of 0.763 Se 74%, Sp 66%, PPV 66%, NPV 71%	
Poynard T et al., 2006, [103]	NASH Test	160 - training group 97 - validation group 383 - controls	Undisclosed formula incorporating: $\alpha 2$ -MG, haptoglobin, apolipoprotein A1, total bilirubin, GGT, ALT, AST, triglycerides, cholesterol, age, gender, height, weight	AUROC 0.79 Se 33%, Sp 94%, PPV 96%, NPV 61%	In other French cohorts (total 494 patients) - similar results
Gholam PM et al., 2007, [64]	Gholam's model	67 patients	$-2.627 * \ln \text{AST} + 2.13$ if diabetes mellitus	AUROC 0.90 cut-off 6.5 - Se 83%, Sp 82%	
Younossi ZM et al., 2008, [91]	NASH Diagnostics	Morbid obese 69 - training group 32 - validation group	Undisclosed formula incorporating: cleaved and total CK18 (M30 and M65 antigens, respectively), adiponectin, resistin	combined AUROC 0.90 cut-off 0.432 - Se 72%, Sp 91%	The same group re-evaluated in 79 patients AUROC 0.70 [104]
Younossi ZM et al., 2011, [104]	NASH Diagnostic Panel	79 patients	Undisclosed formula incorporating: diabetes mellitus, sex, BMI, triglycerides, M30 and M65 antigens	AUROC 0.81 2 cut-offs, 0.221 and 0.6163 - Se 91%, Sp 92%, PPV 63%, NPV 68%	
Tamimi Ti et al., 2011, [98]	Apoptosis Panel	95 - training group 82 - validation group (morbid obese)	Includes: CK18 fragments, soluble Fas and Fas ligand	AUROC 0.93 Cut-off -0.5509 - Se 88%, Sp 89%, PPV 68%, NPV 91%	
Anty R et al., 2010, [105]	Nice model	464 morbid obese patients	Model = $-5.654 + 3.780e-02 * \text{ALT (IU/L)} + 2.215e-03 * \text{CK 18 fragments (IU/L)} + 1.825 * (\text{metabolic syndrome: yes} = 1, \text{no} = 0)$ Logarithmic transformation = $1/(1 + \text{Exp}(-\text{Nice Model}))$	AUROC 0.83-0.88 Cut-off 0.14 - Se 84%, Sp 86%, PPV 44%, NPV 98%	

NASH, non-alcoholic steatohepatitis; ALT, alanine aminotransferase; AUROC, area under receiver operating characteristic; Se, sensitivity; Sp, specificity; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; $\alpha 2$ -MG, alpha-2 macroglobin; GGT, gamma-glutamyltransferase; CK18, cytokeratin 18.

(Machado et al.[27])

ANNEXE : MARQUEURS NON INVASIFS DE FIBROSE

Table 3. Complex scores for predicting fibrosis.

Author, [Ref.]	Score's name	N	Formula	Results	Validation
Ratziu V et al., 2000, [119]	BAAT	93 NAFLD patients	Score calculated by the sum of 4 risk factors: 1. Age ≥50 yr. 2. BMI ≥28 kg/m ² . 3. Triglycerides ≥1.7 mmol/L. 4. ALT ≥2 times upper normal limit	AUROC 0.86 The 4 parameters: Se 14%, Sp 100%, PPV 100%, NPV 73%	
Ghoham PM et al., 2007, [64]	Ghoham's model	97 patients	$2.45 * \lnALT - 36.55 (1/HbA1c) + 9$	AUROC 0.822 cut-off 6.5 - Se 76%, Sp 96%	
Rosenberg W et al., 2004, [120]	Original European Liver Fibrosis score (OELF)	1021 patients, 61 with NAFLD	$OELF = -6.38 - (\ln(\text{age}) * 0.14) - [\ln(\text{hyaluronic acid}) * 0.616] - [\ln(\text{amino-terminal propeptide of type III collagen}) * 0.586] - [\ln(\text{TIMP-1}) * 0.472]$	AUROC 0.87 for advanced fibrosis, in NASH cut-off 0.375 - Se 89%, Sp 96%, PPV 80%, NPV 90%	
Guna IN et al., 2006, [121]	Simplified ELF	196 NAFLD patients	$ELF = -7.412 - [\ln(\text{hyaluronic acid}) * 0.661] - [\ln(\text{amino-terminal propeptide of type III collagen}) * 0.755] - [\ln(\text{TIMP-1}) * 0.494]$	AUROC 0.87 for advanced fibrosis, in NASH cut-off -2.3824 - Se 91%, Sp 99%, PPV 42%, NPV 96%	
Ratziu V et al., 2006, [122]	FibroTest	170 - training group 97 - validation group	Undisclosed formula incorporating: age, α2-macroglobulin, total bilirubin, GGT and apolipoprotein A1	AUROC 0.75-0.86 for significant fibrosis 2 cut-off: 0.3 and 0.7 - Se 77%, Sp 98%, PPV 90%, NPV 73%	Studied by several groups in comparison with other scores.
Angulo P et al., 2007, [123]	NAFLD Fibrosis Score	480 - training group 253 - validation group	$-1.575 + 0.037 * \text{age (yr)} + 0.094 * \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 * \text{IFG/diabetes mellitus (yes = 1, no = 0)} + 0.99 * \text{AST/ALT ratio} - 0.013 * \text{platelet (} * 10^9\text{/L)} - 0.66 * \text{albumin (g/dl)}$	AUROC 0.84 for advanced fibrosis 2 cut-off: -1.455 and 0.676 - Se 82%, Sp 96%, PPV 90%, NPV 93%	External validation in 13 studies, with more than 3000 patients. The most accurate in comparison studies
Harrison SA et al., 2008, [124]	BARD	827 NAFLD patients	Includes 3 variables: 1. BMI ≥28 kg/m ² (1 point), 2. AST/ALT ratio ≥0.8 (2 points), 3. Diabetes mellitus (1 point)	AUROC 0.81 for advanced fibrosis Score 2-4 - PPV 43%, NPV 96%	Studied by several groups in comparison with other scores.
Caixs P et al., 2009, [125]	Fibrometer	235 NAFLD patients	$0.4184 \text{ glucose (mmol/L)} + 0.0701 \text{ AST (I/U/L)} + 0.0008 \text{ ferritin (mg/L)} - 0.0102 \text{ platelet (G/L)} - 0.0260 \text{ ALT (I/U/L)} + 0.0459 \text{ body weight (kg)} + 0.0842 \text{ age (yr)} + 11.6228$	AUROC 0.943 for significant fibrosis 2 cut-off: 0.611 and 0.715 - Se 79%, Sp 96%, PPV 86%, NPV 92%	
McPherson S et al., 2010, [127]	FIB-4	145 NAFLD patients	$\text{age (yr)} * \text{AST (I/U/L)} / \text{platelet count (} 10^9\text{/L)} * \text{ALT}^{10} \text{ (I/U/L)}$	AUROC 0.86 for advanced fibrosis cut-off: 1.3 - Se 85%, Sp 85%, NPV 95%	
Younossi ZM et al., 2011, [104]	NAFLD Diagnostic Panel	79 NAFLD patients	Undisclosed formula incorporating: diabetes mellitus, triglycerides, TIMP-1 and AST	AUROC 0.81 for advanced fibrosis 2 cut-off: 0.0816 and 0.364 - Se 93%, Sp 91%, PPV 58%, NPV 95%	

NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; BMI, body mass index; ALT, alanine aminotransferase; AUROC, area under receiver operating characteristic; Se, sensitivity; Sp, specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; TIMP-1, tissue inhibitor of metalloproteinases; NASH, non-alcoholic steatohepatitis; GGT, gamma-glutamyl transferase; IFG, increased fasting glucose; AST, aspartate aminotransferase.

(Machado et al.[27])

ANNEXE : LISTE DES ABBREVIATIONS

AGL = Acides gras libres

ALAT = Alanine amino transférase

AMPK = Adenosinemonophosphate-activatedprotein kinase

ASAT = Aspartateamino transférase

Ck = Cytokines

EGIR = European Group for the Study of Insulin Resistance

FID = Fédération Internationale du Diabète

γ GT = Gammaglutamyl-transférase

HDL -C = High Density Lipoprotein-Cholestérol

HOMA IR = Homeostatic model assessment

Il1b = Interleukine 1b

IMC = Indice de masse corporelle

NAFLD = Non Alcoholic Fatty Liver Disease

NAS = NAFLD activity score

NASH = Non Alcoholic Steato-Hepatitis

NCEP ATP III= National Cholesterol Education Program Third Adult Treatment Panel

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

PI3K = Phosphatidylinositide 3-kinases

PNPLA3 = Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3

PPARg = Peroxisome proliferator-activated receptor

RE = Réticulum endoplasmique

TG = Triglycérides

TNF α = Tumor Necrosis factor α

TZD = Thiazolidinediones

ANNEXE : INDEX DES SCHEMAS TABLEAUX ET FIGURES

Figure 1: Répartition de la population en fonction du niveau d'IMC selon le rapport Obépi 2012

Tableau I: Définitions du syndrome métabolique

Schéma 1 : Actions de l'insuline chez les individus sains

Schéma 2 : Physiopathologie des stéatopathies métaboliques

Figure 2 : Aspects histopathologiques des NAFLD

Tableau II: Score NAS et fibrose selon Kleiner et al.

Tableau III: Score SAF et algorithme diagnostique selon Bedossa et al.

Tableau IV. Caractéristiques histopathologiques des 857 patients obèses morbides

Tableau V. Données cliniques et biologiques des 857 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NASH

Tableau VI. Données cliniques et biologiques des 857 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NAFLD et de NASH

Tableau VII. Capacité à diagnostiquer une NAFLD ou une NASH de l'ALAT et des marqueurs de l'insulino-résistance (n=857)

Tableau VIII. Caractéristiques histopathologiques des 362 patients obèses morbides

Tableau IX. Données cliniques et biologiques des 362 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NASH

Tableau X. Données cliniques et biologiques des 362 patients obèses morbides répartis selon la présence ou non de NAFLD et de NASH

Tableau XI. Valeurs diagnostiques (AUROCs) pour la présence de NAFLD et de NASH (n=362)

Figure 3 : Courbes ROC pour le diagnostic de NAFLD et de NASH (n=362)

Figure 4 et 5 : Marqueurs potentiels de NASH: valeurs selon le grade de stéatose et corrélation (n=362)

Tableau XII : Valeurs de l'HOMA-IR, l'ALAT et des marqueurs sériques de mort selon la présence ou non de NASH pour un même grade de stéatose (n=362)

Tableau XIII : Performance de différents modèles pour le diagnostic de NASH (n=362)

Figure 6 : Valeur diagnostique du Modèle 1 pour le diagnostic de NASH : Age, ALAT, adipose-IR, marqueur de mort totale

Figure 7 : Valeur diagnostique du Modèle 2 pour le diagnostic de NASH : Âge, tour de taille, HOMA-IR, marqueur de mort

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Paradis, V., Zalinski, S., Chelbi, E., Guedj, N., Degos, F., Vilgrain, V., Bedossa, P., and Belghiti, J., 2009, "Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis," *Hepatology*, 49(3), pp. 851-859.
- [2] Alberti, K. G., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P., Loria, C. M., Smith, S. C., Jr., International Diabetes Federation Task Force on, E., Prevention, National Heart, L., Blood, I., American Heart, A., World Heart, F., International Atherosclerosis, S., and International Association for the Study of, O., 2009, "Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity," *Circulation*, 120(16), pp. 1640-1645.
- [3] Ford, E. S., 2005, "Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S," *Diabetes care*, 28(11), pp. 2745-2749.
- [4] Balkau, B., Vernay, M., Mhamdi, L., Novak, M., Arondel, D., Vol, S., Tichet, J., Eschwege, E., and Group, D. E. S. I. R. S., 2003, "The incidence and persistence of the NCEP (National Cholesterol Education Program) metabolic syndrome. The French D.E.S.I.R. study," *Diabetes & metabolism*, 29(5), pp. 526-532.
- [5] Bedogni, G., Miglioli, L., Masutti, F., Tiribelli, C., Marchesini, G., and Bellentani, S., 2005, "Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study," *Hepatology*, 42(1), pp. 44-52.
- [6] Ratziu, V., Bellentani, S., Cortez-Pinto, H., Day, C., and Marchesini, G., 2010, "A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference," *Journal of hepatology*, 53(2), pp. 372-384.
- [7] Angulo, P., 2002, "Nonalcoholic fatty liver disease," *The New England journal of medicine*, 346(16), pp. 1221-1231.
- [8] Machado, M., Marques-Vidal, P., and Cortez-Pinto, H., 2006, "Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery," *Journal of hepatology*, 45(4), pp. 600-606.
- [9] Mazen, I., El-Gammal, M., Abdel-Hamid, M., and Amr, K., 2009, "A novel homozygous missense mutation of the leptin gene (N103K) in an obese Egyptian patient," *Molecular genetics and metabolism*, 97(4), pp. 305-308.
- [10] Bell, C. G., Meyre, D., Samson, C., Boyle, C., Lecoeur, C., Tauber, M., Jouret, B., Jaquet, D., Levy-Marchal, C., Charles, M. A., Weill, J., Gibson, F., Mein, C. A., Froguel, P., and Walley, A. J., 2005, "Association of melanin-concentrating hormone receptor 1 5' polymorphism with early-onset extreme obesity," *Diabetes*, 54(10), pp. 3049-3055.
- [11] Panchal, S. K., and Brown, L., 2011, "Rodent models for metabolic syndrome research," *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2011, p. 351982.
- [12] Clarke, S. F., Murphy, E. F., Nilaweera, K., Ross, P. R., Shanahan, F., O'Toole, P. W., and Cotter, P. D., 2012, "The gut microbiota and its relationship to diet and obesity: new insights," *Gut microbes*, 3(3), pp. 186-202.
- [13] Stein, C. J., and Colditz, G. A., 2004, "The epidemic of obesity," *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(6), pp. 2522-2525.
- [14] Lopez, R. P., and Hynes, H. P., 2006, "Obesity, physical activity, and the urban environment: public health research needs," *Environmental health : a global access science source*, 5, p. 25.

- [15] Cizza, G., and Rother, K. I., 2012, "Beyond fast food and slow motion: weighty contributors to the obesity epidemic," *Journal of endocrinological investigation*, 35(2), pp. 236-242.
- [16] Day, C. P., and James, O. F., 1998, "Steatohepatitis: a tale of two "hits"?" *Gastroenterology*, 114(4), pp. 842-845.
- [17] Dowman, J. K., Tomlinson, J. W., and Newsome, P. N., 2010, "Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease," *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 103(2), pp. 71-83.
- [18] Feldstein, A. E., Werneburg, N. W., Canbay, A., Guicciardi, M. E., Bronk, S. F., Ryzewski, R., Burgart, L. J., and Gores, G. J., 2004, "Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF-alpha expression via a lysosomal pathway," *Hepatology*, 40(1), pp. 185-194.
- [19] Tilg, H., and Moschen, A. R., 2010, "Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis," *Hepatology*, 52(5), pp. 1836-1846.
- [20] Alkhoury, N., Carter-Kent, C., and Feldstein, A. E., 2011, "Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications," *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 5(2), pp. 201-212.
- [21] Cadranel, J. F., Rufat, P., and Degos, F., 2000, "Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL)," *Hepatology*, 32(3), pp. 477-481.
- [22] Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y. C., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A. J., Sanyal, A. J., and Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research, N., 2005, "Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease," *Hepatology*, 41(6), pp. 1313-1321.
- [23] Brunt, E. M., 2000, "Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond," *Hepatology*, 31(1), pp. 241-246.
- [24] Bedossa, P., Poitou, C., Veyrie, N., Bouillot, J. L., Basdevant, A., Paradis, V., Tordjman, J., and Clement, K., 2012, "Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients," *Hepatology*, 56(5), pp. 1751-1759.
- [25] Obika, M., and Noguchi, H., 2012, "Diagnosis and evaluation of nonalcoholic fatty liver disease," *Experimental diabetes research*, 2012, p. 145754.
- [26] Chen, J., Talwalkar, J. A., Yin, M., Glaser, K. J., Sanderson, S. O., and Ehman, R. L., 2011, "Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography," *Radiology*, 259(3), pp. 749-756.
- [27] Machado, M. V., and Cortez-Pinto, H., 2013, "Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal," *Journal of hepatology*, 58(5), pp. 1007-1019.
- [28] Adams, L. A., Sanderson, S., Lindor, K. D., and Angulo, P., 2005, "The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies," *Journal of hepatology*, 42(1), pp. 132-138.
- [29] Mofrad, P., Contos, M. J., Haque, M., Sargeant, C., Fisher, R. A., Luketic, V. A., Sterling, R. K., Shiffman, M. L., Stravitz, R. T., and Sanyal, A. J., 2003, "Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values," *Hepatology*, 37(6), pp. 1286-1292.

- [30] Sorrentino, P., Tarantino, G., Conca, P., Perrella, A., Terracciano, M. L., Vecchione, R., Gargiulo, G., Gennarelli, N., and Lobello, R., 2004, "Silent non-alcoholic fatty liver disease-a clinical-histological study," *Journal of hepatology*, 41(5), pp. 751-757.
- [31] Feldstein, A. E., Wieckowska, A., Lopez, A. R., Liu, Y. C., Zein, N. N., and McCullough, A. J., 2009, "Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study," *Hepatology*, 50(4), pp. 1072-1078.
- [32] Lavallard, V. J., Bonnafous, S., Patouraux, S., Saint-Paul, M. C., Rousseau, D., Anty, R., Le Marchand-Brustel, Y., Tran, A., and Gual, P., 2011, "Serum markers of hepatocyte death and apoptosis are non invasive biomarkers of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease," *PloS one*, 6(3), p. e17599.
- [33] Yoneda, M., Mawatari, H., Fujita, K., Iida, H., Yonemitsu, K., Kato, S., Takahashi, H., Kirikoshi, H., Inamori, M., Nozaki, Y., Abe, Y., Kubota, K., Saito, S., Iwasaki, T., Terauchi, Y., Togo, S., Maeyama, S., and Nakajima, A., 2007, "High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH," *Journal of gastroenterology*, 42(7), pp. 573-582.
- [34] Anty, R., Bekri, S., Luciani, N., Saint-Paul, M. C., Dahman, M., Iannelli, A., Amor, I. B., Staccini-Myx, A., Huet, P. M., Gugenheim, J., Sadoul, J. L., Le Marchand-Brustel, Y., Tran, A., and Gual, P., 2006, "The inflammatory C-reactive protein is increased in both liver and adipose tissue in severely obese patients independently from metabolic syndrome, Type 2 diabetes, and NASH," *The American journal of gastroenterology*, 101(8), pp. 1824-1833.
- [35] Hui, J. M., Farrell, G. C., Kench, J. G., and George, J., 2004, "High sensitivity C-reactive protein values do not reliably predict the severity of histological changes in NAFLD," *Hepatology*, 39(5), pp. 1458-1459.
- [36] Zimmermann, E., Anty, R., Tordjman, J., Verrijken, A., Gual, P., Tran, A., Iannelli, A., Gugenheim, J., Bedossa, P., Francque, S., Le Marchand-Brustel, Y., Clement, K., Van Gaal, L., Sorensen, T. I., and Jess, T., 2011, "C-reactive protein levels in relation to various features of non-alcoholic fatty liver disease among obese patients," *Journal of hepatology*, 55(3), pp. 660-665.
- [37] Anty, R., Iannelli, A., Patouraux, S., Bonnafous, S., Lavallard, V. J., Senni-Buratti, M., Amor, I. B., Staccini-Myx, A., Saint-Paul, M. C., Berthier, F., Huet, P. M., Le Marchand-Brustel, Y., Gugenheim, J., Gual, P., and Tran, A., 2010, "A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients," *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 32(11-12), pp. 1315-1322.
- [38] Poynard, T., Ratziu, V., Charlotte, F., Messous, D., Munteanu, M., Imbert-Bismut, F., Massard, J., Bonyhay, L., Tahiri, M., Thabut, D., Cadranet, J. F., Le Bail, B., de Ledinghen, V., Group, L. S., and group, C. s., 2006, "Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease," *BMC gastroenterology*, 6, p. 34.
- [39] Angulo, P., Keach, J. C., Batts, K. P., and Lindor, K. D., 1999, "Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis," *Hepatology*, 30(6), pp. 1356-1362.
- [40] Yoneda, M., Mawatari, H., Fujita, K., Yonemitsu, K., Kato, S., Takahashi, H., Kirikoshi, H., Inamori, M., Nozaki, Y., Abe, Y., Kubota, K., Saito, S., Iwasaki, T., Terauchi, Y., Togo, S., Maeyama, S., and Nakajima, A., 2007, "Type IV collagen 7s domain is an independent clinical marker of the severity of fibrosis in patients with

- nonalcoholic steatohepatitis before the cirrhotic stage," *Journal of gastroenterology*, 42(5), pp. 375-381.
- [41] Veillon, P., Gallois, Y., Moal, V., Fouchard-Hubert, I., Charles, I., Larcher, F., Dib, N., Boursier, J., Oberti, F., Laafi, J., Guechot, J., Balan, V., Cales, P., and Lunel-Fabiani, F., 2011, "Assessment of new hyaluronic acid assays and their impact on FibroMeter scores," *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 412(3-4), pp. 347-352.
- [42] Angulo, P., Hui, J. M., Marchesini, G., Bugianesi, E., George, J., Farrell, G. C., Enders, F., Saksena, S., Burt, A. D., Bida, J. P., Lindor, K., Sanderson, S. O., Lenzi, M., Adams, L. A., Kench, J., Therneau, T. M., and Day, C. P., 2007, "The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD," *Hepatology*, 45(4), pp. 846-854.
- [43] Cales, P., Boursier, J., de Ledinghen, V., Halfon, P., Bacq, Y., Leroy, V., Dib, N., Oberti, F., Sawadogo, A., Rousselet, M. C., and Lunel, F., 2008, "Evaluation and improvement of a reliable diagnosis of cirrhosis by blood tests," *Gastroenterologie clinique et biologique*, 32(12), pp. 1050-1060.
- [44] Cales, P., Oberti, F., Michalak, S., Hubert-Fouchard, I., Rousselet, M. C., Konate, A., Gallois, Y., Ternisien, C., Chevaller, A., and Lunel, F., 2005, "A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis," *Hepatology*, 42(6), pp. 1373-1381.
- [45] Cales, P., Boursier, J., Oberti, F., Hubert, I., Gallois, Y., Rousselet, M. C., Dib, N., Moal, V., Macchi, L., Chevaller, A., Michalak, S., Hunault, G., Chaigneau, J., Sawadogo, A., and Lunel, F., 2008, "FibroMeters: a family of blood tests for liver fibrosis," *Gastroenterologie clinique et biologique*, 32(6 Suppl 1), pp. 40-51.
- [46] Wong, G. L., 2013, "Transient elastography: Kill two birds with one stone?," *World journal of hepatology*, 5(5), pp. 264-274.
- [47] Wong, V. W., Vergniol, J., Wong, G. L., Foucher, J., Chan, H. L., Le Bail, B., Choi, P. C., Kowo, M., Chan, A. W., Merrouche, W., Sung, J. J., and de Ledinghen, V., 2010, "Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease," *Hepatology*, 51(2), pp. 454-462.
- [48] Bota, S., Herkner, H., Sporea, I., Salzl, P., Sirli, R., Neghina, A. M., and Peck-Radosavljevic, M., 2013, "Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis," *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*.
- [49] Hafeez, S., and Ahmed, M. H., 2013, "Bariatric surgery as potential treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a future treatment by choice or by chance?," *Journal of obesity*, 2013, p. 839275.
- [50] Van Wagner, L. B., and Rinella, M. E., 2011, "The role of insulin-sensitizing agents in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis," *Therapeutic advances in gastroenterology*, 4(4), pp. 249-263.
- [51] Sanyal, A. J., Chalasani, N., Kowdley, K. V., McCullough, A., Diehl, A. M., Bass, N. M., Neuschwander-Tetri, B. A., Lavine, J. E., Tonascia, J., Unalp, A., Van Natta, M., Clark, J., Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Hoofnagle, J. H., Robuck, P. R., and Nash, C. R. N., 2010, "Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis," *The New England journal of medicine*, 362(18), pp. 1675-1685.
- [52] Ratziu, V., Charlotte, F., Bernhardt, C., Giral, P., Halbron, M., Lenaour, G., Hartmann-Heurtier, A., Bruckert, E., Poynard, T., and Group, L. S., 2010, "Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial," *Hepatology*, 51(2), pp. 445-453.

- [53] Musso, G., Gambino, R., Cassader, M., and Pagano, G., 2010, "A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease," *Hepatology*, 52(1), pp. 79-104.
- [54] Lindor, K. D., Kowdley, K. V., Heathcote, E. J., Harrison, M. E., Jorgensen, R., Angulo, P., Lymp, J. F., Burgart, L., and Colin, P., 2004, "Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial," *Hepatology*, 39(3), pp. 770-778.
- [55] Primeau, V., Coderre, L., Karelis, A. D., Brochu, M., Lavoie, M. E., Messier, V., Sladek, R., and Rabasa-Lhoret, R., 2011, "Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy," *International journal of obesity*, 35(7), pp. 971-981.
- [56] McLaughlin, T., Lamendola, C., Liu, A., and Abbasi, F., 2011, "Preferential fat deposition in subcutaneous versus visceral depots is associated with insulin sensitivity," *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(11), pp. E1756-1760.
- [57] Wildman, R. P., Muntner, P., Reynolds, K., McGinn, A. P., Rajpathak, S., Wylie-Rosett, J., and Sowers, M. R., 2008, "The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004)," *Archives of internal medicine*, 168(15), pp. 1617-1624.
- [58] Patel, P., and Abate, N., 2013, "Body fat distribution and insulin resistance," *Nutrients*, 5(6), pp. 2019-2027.
- [59] Hong, H. C., Lee, J. S., Choi, H. Y., Yang, S. J., Yoo, H. J., Seo, J. A., Kim, S. G., Kim, N. H., Baik, S. H., Choi, D. S., and Choi, K. M., 2013, "Liver enzymes and vitamin D levels in metabolically healthy but obese individuals: Korean National Health and Nutrition Examination Survey," *Metabolism: clinical and experimental*.
- [60] Messier, V., Karelis, A. D., Robillard, M. E., Bellefeuille, P., Brochu, M., Lavoie, J. M., and Rabasa-Lhoret, R., 2010, "Metabolically healthy but obese individuals: relationship with hepatic enzymes," *Metabolism: clinical and experimental*, 59(1), pp. 20-24.
- [61] Prati, D., Taioli, E., Zanella, A., Della Torre, E., Butelli, S., Del Vecchio, E., Vianello, L., Zanuso, F., Mozzi, F., Milani, S., Conte, D., Colombo, M., and Sirchia, G., 2002, "Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels," *Annals of internal medicine*, 137(1), pp. 1-10.
- [62] Kunde, S. S., Lazenby, A. J., Clements, R. H., and Abrams, G. A., 2005, "Spectrum of NAFLD and diagnostic implications of the proposed new normal range for serum ALT in obese women," *Hepatology*, 42(3), pp. 650-656.
- [63] Lomonaco, R., Ortiz-Lopez, C., Orsak, B., Webb, A., Hardies, J., Darland, C., Finch, J., Gastaldelli, A., Harrison, S., Tio, F., and Cusi, K., 2012, "Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease," *Hepatology*, 55(5), pp. 1389-1397.
- [64] Diab, D. L., Yerian, L., Schauer, P., Kashyap, S. R., Lopez, R., Hazen, S. L., and Feldstein, A. E., 2008, "Cytokeratin 18 fragment levels as a noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients," *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 6(11), pp. 1249-1254.
- [65] Tamimi, T. I., Elgouhari, H. M., Alkhouri, N., Yerian, L. M., Berk, M. P., Lopez, R., Schauer, P. R., Zein, N. N., and Feldstein, A. E., 2011, "An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis," *Journal of hepatology*, 54(6), pp. 1224-1229.
- [66] Younossi, Z. M., Jarrar, M., Nugent, C., Randhawa, M., Afendy, M., Stepanova, M., Rafiq, N., Goodman, Z., Chandhoke, V., and Baranova, A., 2008, "A novel

- diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH)," *Obesity surgery*, 18(11), pp. 1430-1437.
- [67] Tran, A., and Gual, P., 2013, "Non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients," *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 37(1), pp. 17-29.
- [68] Yamaguchi, K., Yang, L., McCall, S., Huang, J., Yu, X. X., Pandey, S. K., Bhanot, S., Monia, B. P., Li, Y. X., and Diehl, A. M., 2007, "Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis," *Hepatology*, 45(6), pp. 1366-1374.
- [69] Anstee, Q. M., Daly, A. K., and Day, C. P., 2011, "Genetic modifiers of non-alcoholic fatty liver disease progression," *Biochimica et biophysica acta*, 1812(11), pp. 1557-1566.
- [70] Romeo, S., Kozlitina, J., Xing, C., Pertsemlidis, A., Cox, D., Pennacchio, L. A., Boerwinkle, E., Cohen, J. C., and Hobbs, H. H., 2008, "Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease," *Nature genetics*, 40(12), pp. 1461-1465.
- [71] Speliotes, E. K., Yerges-Armstrong, L. M., Wu, J., Hernaez, R., Kim, L. J., Palmer, C. D., Gudnason, V., Eiriksdottir, G., Garcia, M. E., Launer, L. J., Nalls, M. A., Clark, J. M., Mitchell, B. D., Shuldiner, A. R., Butler, J. L., Tomas, M., Hoffmann, U., Hwang, S. J., Massaro, J. M., O'Donnell, C. J., Sahani, D. V., Salomaa, V., Schadt, E. E., Schwartz, S. M., Siscovick, D. S., Nash, C. R. N., Consortium, G., Investigators, M., Voight, B. F., Carr, J. J., Feitosa, M. F., Harris, T. B., Fox, C. S., Smith, A. V., Kao, W. H., Hirschhorn, J. N., Borecki, I. B., and Consortium, G., 2011, "Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits," *PLoS genetics*, 7(3), p. e1001324.
- [72] Rotman, Y., Koh, C., Zmuda, J. M., Kleiner, D. E., Liang, T. J., and Nash, C. R. N., 2010, "The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease," *Hepatology*, 52(3), pp. 894-903.
- [73] Hoekstra, M., Li, Z., Kruijt, J. K., Van Eck, M., Van Berkel, T. J., and Kuiper, J., 2010, "The expression level of non-alcoholic fatty liver disease-related gene PNPLA3 in hepatocytes is highly influenced by hepatic lipid status," *Journal of hepatology*, 52(2), pp. 244-251.
- [74] Dixon, J. B., Bhathal, P. S., and O'Brien, P. E., 2001, "Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese," *Gastroenterology*, 121(1), pp. 91-100.
- [75] Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Wilson, L. A., Belt, P., Neuschwander-Tetri, B. A., and Network, N. C. R., 2011, "Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings," *Hepatology*, 53(3), pp. 810-820.
- [76] Lassailly, G., Caiazzo, R., Hollebecque, A., Buob, D., Leteurtre, E., Arnalsteen, L., Louvet, A., Pigeyre, M., Raverdy, V., Verkindt, H., Six, M. F., Eberle, C., Patrice, A., Dharancy, S., Romon, M., Pattou, F., and Mathurin, P., 2011, "Validation of noninvasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest, and NashTest) for prediction of liver injury in patients with morbid obesity," *European journal of gastroenterology & hepatology*, 23(6), pp. 499-506.