

ARTICLE

Les mécanismes de mort cellulaire dans la stéatohépatite non alcoolique

Julie Magusto^{1,2}, Amine Majdi^{1,2}, et Jérémie Gautheron^{1,2,*}

¹ Sorbonne Université, Inserm, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), 27 rue Chaligny, 75571 Paris cedex 12, France

² Institut de Cardiométabolisme et de Nutrition (ICAN), GHU Pitié-Salpêtrière, 47–83 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

Reçu le 5 mars 2020

Résumé– La mort hépatocellulaire chronique et l'inflammation qui en résulte sont des événements clés dans la progression de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFL) vers la stéatohépatite non alcoolique (NASH). La NASH est un état sévère de la maladie qui est associé au développement de la fibrose et qui peut à terme évoluer vers la cirrhose et le cancer du foie. L'apoptose a initialement été étudiée comme cible potentielle pour réduire la mort des hépatocytes dans la NASH. Cependant, des études récentes suggèrent que l'inhibition des caspases est inefficace pour traiter les patients atteints de NASH et pourrait même aggraver la maladie en redirigeant les hépatocytes vers d'autres voies de mort cellulaire. De nouvelles formes de mort cellulaire dites lytiques ont récemment été identifiées et induisent de fortes réponses inflammatoires causées par la perméabilisation des membranes cellulaires. Le contrôle de ces voies de mort lytiques offre par conséquent de nouvelles opportunités thérapeutiques pour traiter la NASH. Cette revue résume les mécanismes moléculaires déclenchant l'apoptose et les voies de mort lytiques, parmi lesquelles la nécroptose, la pyroptose et la ferroptose, et discute de leur pertinence dans la NASH.

Mots clés : stéatohépatite non alcoolique, apoptose, nécroptose, pyroptose, ferroptose

Abstract – Cell death mechanisms in non-alcoholic steatohepatitis. Continuous cell death associated with inflammation is a key trigger of disease progression notably in chronic liver diseases such as non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Apoptosis has been studied as a potential target for reducing cell death in NASH. However, recent studies suggest that caspase inhibition is inefficient to treat NASH patients and may aggravate the disease by redirecting cells to alternative mechanisms of cell death. Alternative forms of lytic cell death have recently been identified and are known to induce strong inflammatory responses due to cell membrane permeabilization. Therefore, controlling lytic cell death modes offers new opportunities for potential therapeutic intervention in NASH. This review summarizes the underlying molecular mechanisms of apoptosis and lytic cell death modes, including necroptosis, pyroptosis and ferroptosis, and discusses their relevance in NASH.

Keywords: non-alcoholic steatohepatitis, apoptosis, necroptosis, pyroptosis, ferroptosis

Abréviations

ACSL4	Acyl-CoA synthétase 4
AIF	Apoptosis-Inducing Factor
ALR	AIM2-like receptor
ALT	Alanine aminotransférase
APAF	Apoptotic Peptidase Activating Factor 1
ASC	Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD
Bad	BCL2 associated agonist of cell death
Bax	BCL2 associated x protein

Bid	BH3 interacting death agonist
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Bcl-xl	B-cell lymphoma-extra large
CAD	Caspase-Activated DNase
CDE	Choline-Deficient, Ethionine supplemented diet
CoQ10	Coenzyme Q10
CrmA	Cytokine response modifier A
CYLD	Cylindromatosis
DAMP	Damage-Associated Molecular Pattern
DD	Death Domain
DED	Death Effector Domain
DIABLO	Diablo IAP-Binding mitochondrial protein
DISC	Death-Inducing Signaling Complex

*Auteur correspondant : jeremie.gautheron@inserm.fr

FADD	<i>Fas Associated Death Domain</i>
FasL	<i>Stimulating Apoptosis Fragment-Ligand</i>
FLIP	<i>Fllice Inhibitory System</i>
FSP1	<i>Ferroptosis Suppressor Protein 1</i>
GPX4	Glutathion peroxydase 4
GSDMD	Gasdermine D
GSH	Glutathion
HFD	<i>High Fat Diet</i>
HO	Radical hydroxyle
HtrA2	<i>High Temperature Requirement Protein A2</i>
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
IAP	<i>Inhibitor of Apoptosis</i>
IL	Interleukine
LOX	Lipoxygénases
LPCAT3	Lysophosphatidylcholine acyltransférase 3
LPS	Lipopolysaccharide
MCD	Méthionine-Choline-Déficient
MLKL	<i>Mixed Lineage Kinase domain Like pseudo kinase</i>
NAFL	<i>Non Alcoholic Fatty Liver</i>
NAFLD	<i>Non Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NASH	<i>Non-Alcoholic SteatoHepatitis</i>
NLR	<i>Nucleotide-binding domain and Leucine-rich-Repeat-containing</i>
O ₂ ^{•-}	Anion radical superoxyde
PAMP	<i>Pathogen-Associated Molecular Pattern</i>
PUFA	<i>PolyUnsaturated Fatty Acid</i>
RHIM	<i>RIP Homotypic Interaction Motif</i>
RIPK	<i>Receptor Interacting Protein Kinase</i>
RO [•]	Radicaux hydroxyle ou alcoxyle
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SMAC	<i>Second Mitochondrial-derived Activator of Caspases</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRADD	<i>TNF Receptor Associated Death Domain</i>
TfR	<i>Transferrin Receptor</i>

Introduction

Les cellules sont exposées à de nombreuses perturbations extra- et intracellulaires qui peuvent rompre l'homéostasie cellulaire et entraîner l'activation de voies de mort cellulaire. Ces voies sont initiées et propagées par l'intermédiaire de mécanismes moléculaires distincts qui mènent au développement de réactions immunitaires allant d'un profil anti-inflammatoire et tolérogène jusqu'à un profil pro-inflammatoire et immunogène. Plusieurs décennies de recherche ont révélé de multiples formes de mort cellulaire génétiquement programmées qui peuvent coexister simultanément dans un contexte pathologique et qui possèdent des mécanismes d'activation chevauchants afin d'assurer une stratégie de « sauvegarde » si l'une de ces voies venait à être court-circuitée.

Dans les maladies hépatiques chroniques, des agents toxiques, métaboliques, viraux ou auto-immuns entraînent la mort des hépatocytes, qui est suivie par une inflammation et une prolifération compensatoire.

Ces événements sont étroitement liés au développement de la fibrose, de la cirrhose et du carcinome hépatocellulaire (Luedde *et al.*, 2014). Traditionnellement, l'apoptose était considérée comme la seule voie de mort cellulaire hautement régulée, directement opposée à la nécrose passive, une forme de mort cellulaire accidentelle et incontrôlée. La nécrose passive survient lorsque les cellules sont irrémédiablement endommagées par des forces extérieures. Elle est caractérisée par un gonflement rapide de la cellule, une dilatation des organelles ainsi qu'une rupture de la membrane plasmique. La perméabilisation de la membrane plasmique libère des molécules associées aux dégâts (*Damage-Associated Molecular Patterns*, DAMP) qui peuvent alors déclencher une forte réponse inflammatoire. Des découvertes récentes ont mis en évidence de nouvelles formes de nécrose, telles que la nécroptose, la pyroptose et la ferroptose, qui partagent les caractéristiques morphologiques de la nécrose passive, mais qui ont des mécanismes d'activation propres et hautement programmés comme c'est le cas pour l'apoptose (Vanden Berghe *et al.*, 2014; Galluzzi *et al.*, 2018).

La stéatose hépatique non alcoolique (*Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*, NAFLD) couvre un spectre de maladies hépatiques chroniques allant de la simple stéatose (*Non-Alcoholic Fatty Liver*, NAFL), caractérisée par une accumulation de triglycérides au sein des hépatocytes, à la stéatohépatite non alcoolique (*Non-Alcoholic Steatohepatitis*, NASH) qui est définie par une nécro-inflammation pouvant conduire au développement de la fibrose (Friedman *et al.*, 2018). La NAFLD est fortement associée à l'obésité et au syndrome métabolique. Sa prévalence est estimée à un tiers de la population générale dans les pays industrialisés. En raison du manque de thérapies pharmacologiques et de la pandémie d'obésité, la NAFLD est devenue un problème majeur de santé publique (Tsochatzis & Newsome, 2018). Bien que les altérations métaboliques causées par une surcharge en acides gras libres soient considérées comme une source majeure des lésions aux hépatocytes, les mécanismes conduisant à la progression de la maladie de la simple stéatose à la NASH restent très mal compris (Friedman *et al.*, 2018). La lipotoxicité, le stress oxydatif, le dysfonctionnement des organites et la réponse inflammatoire exacerbent la mort cellulaire des hépatocytes. Cette mort qui devient chronique peut déclencher le recrutement des cellules immunitaires, l'activation des cellules stellaires hépatiques et le renouvellement des hépatocytes. L'ensemble de ces réactions, initié par la mort cellulaire devenue chronique, stimulerait la progression de la maladie vers la NASH. Bien qu'historiquement, l'accent ait été mis sur l'apoptose et la nécrose passive, les morts cellulaires programmées lytiques, telles que la nécroptose, la pyroptose et la ferroptose, ont récemment été impliquées dans la pathogenèse de la NASH. Cette revue résume les connaissances actuelles sur la contribution des différentes formes de mort cellulaire programmées dans le développement de la NASH.

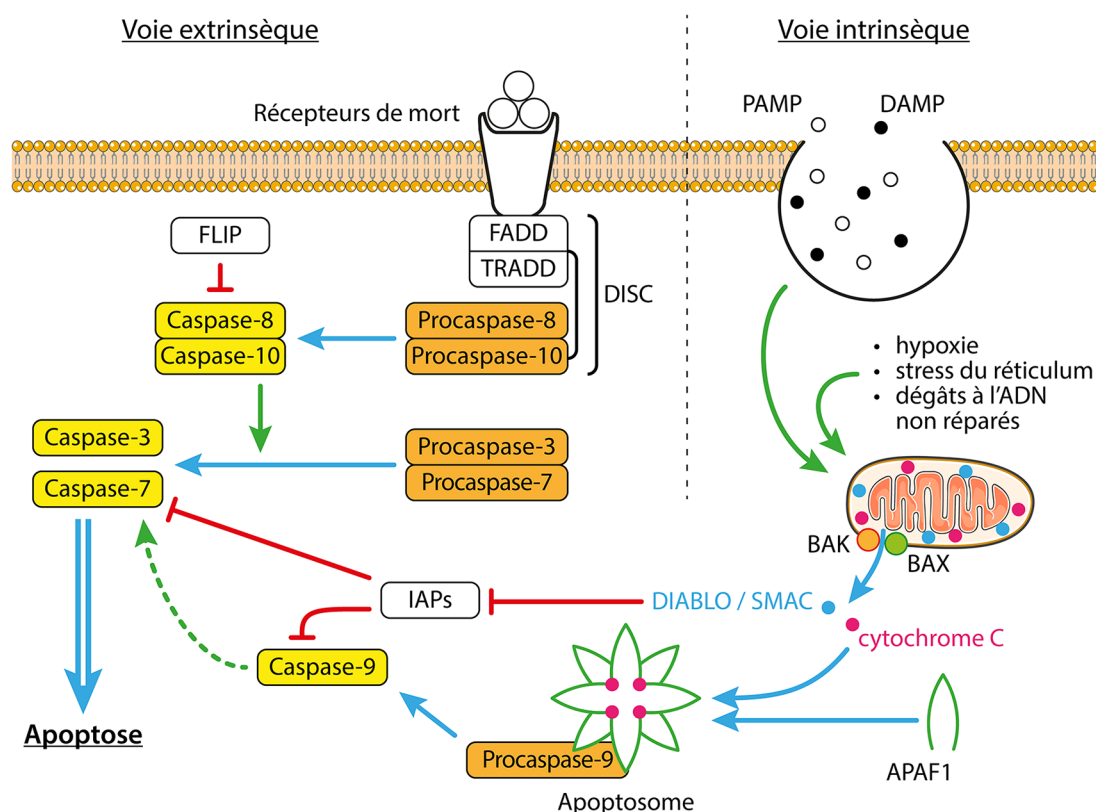


Figure 1. Les voies extrinsèque et intrinsèque de l'apoptose. L'apoptose peut être déclenchée par la voie extrinsèque dépendante des récepteurs de mort, ou par la voie intrinsèque dépendante des mitochondries. La voie extrinsèque est activée par la liaison des ligands de mort tels que Fas, Trail ou TNF- α sur leurs récepteurs. L'activation du récepteur conduit au recrutement des protéines adaptatrices TRADD et FADD, puis des procaspases 8 et 10 pour former un complexe de signalisation induisant la mort (*Death-Inducing Signaling Complex*, DISC). Les procaspases 8 et 10 s'auto-activent et clivent ensuite les procaspases 3 et 7 en leurs formes matures responsables du déclenchement de l'apoptose. La voie intrinsèque, quant à elle, est dépendante de l'intégrité des mitochondries. En réponse à un stress, le potentiel membranaire mitochondrial chute. Les protéines BAX et BAK provoquent alors la formation de pores mitochondriaux et le relargage de protéines pro-apoptotiques (cytochrome C, DIABLO/SMAC) dans le cytoplasme de la cellule. L'association du cytochrome C avec la protéine APAF forme l'apoptosome permettant le clivage de la procaspase-9. Une fois activée, la caspase-9 active les procaspases 3 et 7 effectrices de l'apoptose. D'autre part, la protéine DIABLO interagit avec les protéines inhibitrices de l'apoptose (IAP), les rendant inactives.

L'apoptose : des mécanismes moléculaires à la physiopathologie de la NASH

L'apoptose est la première forme de mort cellulaire programmée découverte. Elle fut identifiée il y a maintenant quarante-huit ans (Kerr *et al.*, 1972). À l'inverse de la nécrose passive, l'apoptose est caractérisée par un rétrécissement et une pycnose progressive de la cellule, avec une condensation de la chromatine et du cytoplasme, suivie d'une fragmentation de l'ADN donnant lieu à la formation de fragments cellulaires appelés corps apoptotiques (Kerr, 2002 ; Elmore, 2007). Les corps apoptotiques formés conservent l'intégrité de leur membrane plasmique prévenant ainsi le relargage du contenu intra-cytoplasmique et par conséquent le déclenchement d'une réponse inflammatoire. L'apoptose s'effectue par le biais de protéases, les caspases, qui entraînent la mort cellulaire en déclenchant la dégradation de substrats cellulaires cytoplasmiques et nucléaires. Les caspases sont synthétisées sous une forme de précurseurs inactifs, les procaspases, dont l'activation d'un premier contingent de

caspases dites initiatrices, comme la caspase-8/10, entraîne l'activation séquentielle des caspases dites effectrices, telles que la caspase-3, au sein d'une cascade protéolytique. Le processus d'activation peut être initié par divers types de signaux intra- et extracellulaires. Deux voies canoniques d'activation ont été identifiées : la voie extrinsèque dépendante des récepteurs de mort et la voie intrinsèque dépendante des mitochondries (Elmore, 2007) (Figure 1).

La voie intrinsèque dépend de l'intégrité des mitochondries qui peut être compromise par des radiations, des toxines, l'hypoxie, la génération d'espèces réactives de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species*, ROS) ou encore certaines infections (Elmore, 2007 ; Estaquier *et al.*, 2012). La perte du potentiel membranaire mitochondrial induit la formation de pores transmembranaires mitochondriaux qui déclenchent le relargage dans le cytosol de deux familles de protéines pro-apoptotiques, normalement séquestrées dans l'espace inter-membranaire des mitochondries (Estaquier *et al.*, 2012). La première famille regroupe le cytochrome C, la protéine DIABLO

(aussi appelée *Second Mitochondrial-derived Activator of Caspases*, SMAC) et la sérine protéase HtrA2 (van Loo *et al.*, 2002a, b). C'est à partir du complexe formé par le cytochrome C et la protéine APAF1 (*Apoptotic Peptidase Activating Factor 1*) que l'apoptosome se forme. Ce dernier déclenche l'activation de la caspase-9 qui, en retour, active les caspases effectrices 3 et 7 (Estaquier *et al.*, 2012). En parallèle, la protéine DIABLO interagit avec la famille des protéines inhibitrices de l'apoptose (*Inhibitor of Apoptosis*, IAP), les rendant inactives et la sérine protéase HtrA2 provoque leur dégradation (van Loo *et al.*, 2002a, b). La seconde famille comprend le facteur inducteur de l'apoptose (*Apoptosis-Inducing Factor*, AIF), l'endonucléase G et la protéine CAD (*Caspase-Activated DNase*) qui sont relargués une fois la mort par apoptose déclenchée. Ils sont alors transloqués dans le noyau pour participer à la condensation de la chromatine ainsi qu'à la fragmentation de l'ADN (Enari *et al.*, 1998; Joza *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2001). La régulation de la voie intrinsèque est intimement liée à l'expression des gènes de la famille de la protéine Bcl-2 (Cory & Adams, 2002). Cette famille est constituée de 25 gènes pouvant être pro- ou anti-apoptotiques tels que *Bax*, *Bak*, *Bid*, *Bad* ou *Bcl-2*, *Bcl-xl* respectivement. En effet, l'expression de *Bad* et *Bak* favorise la création des pores mitochondriaux alors que celle de *Bcl-2* et *Bcl-xl* l'inhibe (Cory & Adams, 2002). Ces protéines jouent un rôle majeur en modulant la poursuite, ou non, du processus de mort cellulaire.

La voie extrinsèque est activée lors de la fixation de ligands de mort tels que le facteur de nécrose tumorale (*Tumor Necrosis Factor*, TNF) ou la protéine FasL (*Stimulating Apoptosis Fragment-Ligand*) sur leurs récepteurs qui possèdent une séquence intra-cytoplasmique conservée, le domaine de mort (*Death Domain*, DD) (Ashkenazi & Dixit, 1998; Guicciardi & Gores, 2009). L'activation du récepteur conduit au recrutement de protéines adaptatrices au niveau du DD, à savoir FADD (*Fas Associated Death Domain*) et TRADD (*TNF Receptor Associated Death Domain*). Par l'intermédiaire de leur domaine DED (*Death Effector Domain*), FADD et TRADD recrutent les procaspases 8 et 10. Le complexe ainsi formé, appelé DISC (*Death-Inducing Signaling Complex*), permet l'augmentation de la concentration locale des caspases qui sont alors en mesure de s'activer par auto-clivage. Les caspases 8 et 10 permettent enfin l'activation des caspases effectrices 3 et 7. La voie extrinsèque est principalement régulée au niveau de la formation du DISC. Par exemple, la protéine FLIP (*Fllice Inhibitory Protein*) peut empêcher le recrutement des caspases 8 et 10 (Ashkenazi & Dixit, 1998; Guicciardi & Gores, 2009). Une voie alternative peut également être déclenchée et induire le recrutement de RIPK1 (*Receptor Interacting Protein Kinase 1*), au niveau du complexe TRADD/FADD. Consécutivement à sa déubiquitination par la protéine cylindromatosis (CYLD), RIPK1 peut recruter la procaspase-8. Cet ensemble de protéines est appelé le ripoptosome et permet d'activer l'apoptose

dépendante de la caspase-8 si la voie extrinsèque classique venait à être court-circuitée (Tenev *et al.*, 2011).

L'apoptose des hépatocytes a été décrite dans la NASH et est positivement corrélée à l'expression de la forme active de la caspase-3. Cette forme est augmentée aussi bien dans des modèles murins de stéatohépatite que chez des patients atteints de NASH (Feldstein *et al.*, 2003; Thapaliya *et al.*, 2014). De plus, un fragment de la cytokératine-18, clivée par la caspase-3, est retrouvé dans le sérum de patients NASH en concentration plus élevée que dans celui des patients avec une simple stéatose (Feldstein *et al.*, 2009). D'autre part, la caspase-2 est également régulée positivement dans le foie des patients atteints de NASH (Machado *et al.*, 2015, 2016). Elle joue un rôle important dans l'activation de l'apoptose induite par les acides gras polyinsaturés à chaîne longue. De façon intéressante, les souris caspase-2^{-/-} sont protégées contre une obésité induite par un régime riche en graisse et ne développent ni syndrome métabolique ni NAFLD (Machado *et al.*, 2015, 2016). Enfin, l'inhibition ou l'invalidation de différentes caspases dans des modèles murins sous régime Méthionine-Choline-Déficient (MCD) permet de réduire la mort des hépatocytes et la fibrose hépatique (Witek *et al.*, 2009; Hatting *et al.*, 2013; Barreyro *et al.*, 2015). Plusieurs essais cliniques ciblant les caspases ont été initiés ces dernières années avec l'utilisation de pan-inhibiteurs chez les patients atteints de NASH. Ils n'ont à ce jour pas amélioré significativement la stéatose, le degré d'inflammation et de fibrose chez ces patients (Ratziu *et al.*, 2012; Garcia-Tsao *et al.*, 2019; Harrison *et al.*, 2019). Enfin, le processus apoptotique ne permet pas, en lui-même, d'expliquer l'aspect inflammatoire trouvé dans un contexte de NASH. Cela suggère donc que d'autres voies de mort cellulaire pourraient être impliquées dans le développement de cette pathologie.

Les morts cellulaires programmées lytiques dans la NASH

La nécroptose

La première évidence de l'existence de la nécroptose remonte à 1996 quand Ray *et al.* ont observé une mort lytique des cellules rénales de porc infectées par le virus bovin de la variole. Ce virus exprimait la protéine CrmA (*Cytokine response modifier A*), un inhibiteur viral des caspases (Ray & Pickup, 1996). En 1998, Vercammen *et al.* ont découvert qu'une lignée de fibroblastes murins, appelée L929, était sensible à la mort induite par le TNF- α après inhibition des caspases. En 2000, Holler *et al.* ont démontré que les récepteurs de mort classiques initiaient la mort cellulaire par deux voies alternatives, l'une reposant sur la caspase-8, c'est-à-dire la voie apoptotique extrinsèque et l'autre dépendant de la kinase RIPK1, à savoir la nécroptose. Cependant, le terme « nécroptose » utilisé pour décrire cette nouvelle voie de mort cellulaire programmée n'est apparu qu'en 2005, lorsque Degterev *et al.* ont montré que la nécrostatine-1, un composé

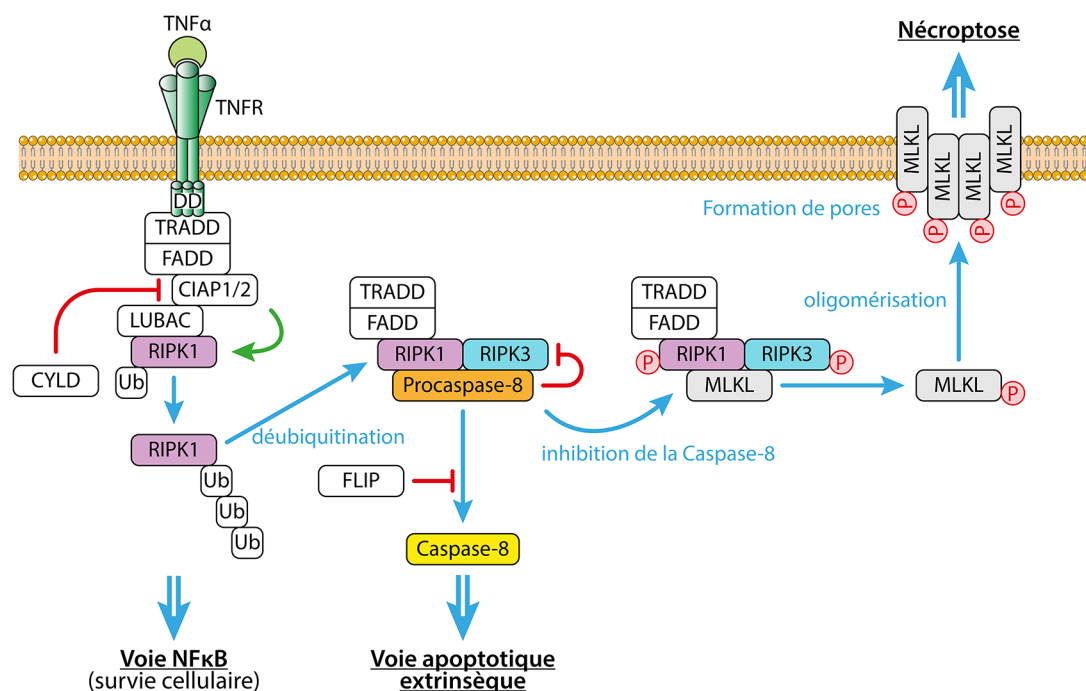


Figure 2. Les mécanismes moléculaires d'activation de la nécroptose. Après la fixation du ligand sur son récepteur de mort, le domaine intra-cytoplasmique du récepteur TNFR recrute les protéines adaptatrices TRADD et FADD, la kinase RIPK1 et les ubiquitines ligases cIAP1/2 et LUBAC. Ces dernières sont responsables de l'ubiquitination de RIPK1, un événement nécessaire à l'activation de NFκB et de la survie cellulaire. Un deuxième complexe de signalisation peut se former si les chaînes d'ubiquitines de RIPK1 sont éliminées. RIPK1 peut alors s'associer à RIPK3 et entraîner l'activation de l'apoptose dépendante de la caspase-8. Dans ce complexe, la caspase-8 clive RIPK1 et RIPK3 pour prévenir la formation du nécrosome, complexe protéique inducteur de la nécroptose. En revanche, si la caspase-8 se trouve inactivée par FLIP par exemple, l'activité kinase de RIPK1 permet d'activer la kinase RIPK3 qui recrute et phosphoryle MLKL. MLKL va ensuite s'oligomériser et se localiser au niveau de la membrane plasmique afin d'y créer des pores. La perméabilisation de la membrane plasmique entraîne le relargage de médiateurs de l'inflammation.

chimique qui bloque l'activité kinase de RIPK1, était capable d'inhiber la mort cellulaire induite par le TNF-α. Plus tard, les deux médiateurs de la nécroptose en aval de RIPK1, RIPK3 et MLKL (*Mixed Lineage Kinase domain Like pseudo kinase*) furent identifiés en moins d'une décennie (He *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2012). La nécroptose, qui est principalement déclenchée à la suite d'infections microbiennes, partage les caractéristiques morphologiques de la nécrose passive avec une augmentation du volume cellulaire, un gonflement des organites et une perte de l'intégrité membranaire qui conduit à la libération de DAMP et de cytokines pro-inflammatoires.

La nécroptose survient lors de l'activation des récepteurs de mort mais uniquement si les composants de la signalisation de la voie apoptotique sont inactifs, absents ou inhibés (*e.g.*, l'inhibition des caspases). Dans ce contexte particulier, le récepteur déclenche la formation d'un complexe de mort nommé le nécrosome (Tang *et al.*, 2019) (Figure 2). En son sein, RIPK1 et RIPK3 s'associent par l'intermédiaire de leur domaine RHIM (*RIP Homotypic Interaction Motif*) (Mompean *et al.*, 2018). En conséquence, RIPK1 phosphoryle RIPK3 et l'active. RIPK3 phosphoryle alors MLKL entraînant son oligomérisation et sa translocation vers la membrane plasmique où elle y forme des pores (Dondelinger *et al.*, 2014;

Hildebrand *et al.*, 2014). Il existe une régulation mutuelle entre l'apoptose et la nécroptose, et il semble que l'une ne peut s'activer que si l'autre est inhibée (Vanden Berghe *et al.*, 2015). En effet, la caspase-8 peut cliver et inactiver RIPK1 et RIPK3, ce qui a pour conséquence d'empêcher l'activation de la nécroptose (Lin *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2007). À l'inverse, l'activité de RIPK3 détermine si les cellules meurent par nécroptose (le nécrosome est formé) ou par apoptose si son activité kinase est inhibée (Mandal *et al.*, 2014; Newton *et al.*, 2014).

L'expression de RIPK3 et MLKL est augmentée dans le foie des patients atteints de NASH en comparaison avec le stade de simple stéatose (Afonso *et al.*, 2015; Gautheron *et al.*, 2014, 2015). Cette augmentation est également trouvée dans le tissu adipeux viscéral des patients obèses atteints de diabète de type 2 et corrèle positivement avec les marqueurs métaboliques sériques chez ces patients (Gautheron *et al.*, 2016). Enfin, RIPK1 et MLKL sont retrouvées dans le plasma des patients atteints de NASH (Majdi *et al.*, 2019). Fait intéressant, les souris RIPK3^{-/-} sont protégées contre le développement de la NASH en régime MCD (Gautheron *et al.*, 2014; Afonso *et al.*, 2015), mais pas en régime riche en graisse (*High Fat Diet*, HFD). En effet, chez les souris RIPK3^{-/-}, les lésions hépatiques sont exacerbées par la présence d'hépatocytes en apoptose (Gautheron *et al.*, 2016; Roychowdhury *et al.*, 2016). Bien

que les mécanismes moléculaires déclenchant cette apoptose en absence de RIPK3 ne soient pas encore élucidés, cela illustre une nouvelle fois l'interdépendance des voies de mort cellulaire programmée. Enfin, les souris MLKL^{-/-} ne développent pas de NASH, sont moins obèses et arborent un profil métabolique sain (Xu *et al.*, 2019).

Récemment, il a été montré que l'inhibition de l'activité kinase de RIPK1 par RIPA-56, un inhibiteur spécifique et stable *in vivo*, réduit l'expression hépatique de RIPK3 et MLKL chez les souris nourries avec un régime HFD (Majdi *et al.*, 2019). Des effets similaires sont obtenus quand le site catalytique de RIPK1 est muté dans un modèle murin de NASH (Tao *et al.*, 2020). La formation du nécrosome n'étant plus possible, le développement de la NASH est significativement réduit par rapport aux souris témoins (Majdi *et al.*, 2019; Tao *et al.*, 2020). L'inhibition de RIPK1 diminue également la stéatose hépatique par des mécanismes impliquant les mitochondries et l'augmentation de la β -oxydation des lipides (Majdi *et al.*, 2019). De façon similaire, l'inhibition pharmacologique de MLKL diminue la synthèse hépatique *de novo* des graisses et améliore la réponse à l'insuline (Majdi *et al.*, 2019; Saeed *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2019). Ces données démontrent que cibler spécifiquement RIPK1 ou MLKL pourrait aussi avoir des effets bénéfiques sur les altérations métaboliques, par exemple la résistance à l'insuline, qui sont associées à l'obésité.

Dans l'ensemble, ces études précliniques démontrent un rôle prépondérant de la nécroptose dans le développement de la NASH dans des modèles murins. Néanmoins, des études supplémentaires, telles que des invalidations spécifiques de RIPK3 ou de MLKL dans les hépatocytes murins sont nécessaires pour affiner le potentiel thérapeutique de traitements ciblés sur la nécroptose pour réduire la NASH.

La pyroptose

La pyroptose fut initialement observée en 1992 par Zychlinsky *et al.* qui décrivent une forme lytique de mort cellulaire chez les macrophages infectés par *Shigella flexneri*. Cependant, le terme « pyroptose » n'est apparu qu'une décennie plus tard, en 2001, lorsque Cookson et Brennan ont démontré que la mort des macrophages induite par *Salmonella* était dépendante de la caspase-1. Depuis cette découverte, le nombre de caspases pyroptotiques, par opposition aux caspases apoptotiques, a considérablement augmenté. La caspase-1, la caspase-11 et leurs orthologues humains, les caspases 4 et 5 (Kayagaki *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 2014), et encore, de façon plus surprenante, l'effecteur apoptotique caspase-3 dans des circonstances spécifiques (Rogers *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017) ont été impliquées dans cette voie de mort. La pyroptose, qui survient principalement lors d'une infection par des agents pathogènes intracellulaires, est caractérisée par la formation de pores dépendant des caspases dans la membrane plasmique, un gonflement et une rupture de la membrane cellulaire, et la libération d'IL-1 β et IL-18 pro-inflammatoires (Bergsbaken *et al.*, 2009). En 2015, la

gasdermine D (GSDMD) a été identifiée comme l'effecteur de la pyroptose (Kayagaki *et al.*, 2015; Shi *et al.*, 2015). Les caspases 1 et 11 clivent la GSDMD en un fragment N-terminal de 31 kDa (GSDMD^{NT}), qui est responsable de la formation des pores dans la membrane plasmique, et en un fragment C-terminal de 22 kDa (GSDMD^{CT}), qui peut se lier au fragment N-terminal pour le maintenir dans un état inactif (Kayagaki *et al.*, 2015; Shi *et al.*, 2015). La GSDMD appartient à une plus grande famille de protéines, composée de plusieurs membres tels que la GSDMA, GSDMB, GSDMC et GSDME (Orning *et al.*, 2019). Récemment, la GSDME a été identifiée comme un effecteur supplémentaire de cette voie, capable de substituer la pyroptose à l'apoptose médiée par la caspase-3 (Wang *et al.*, 2017). Bien que la plupart des gasdermines aient été associées à l'apparition et au développement de diverses maladies, leurs fonctions précises et leurs mécanismes d'activation restent très peu définis (Broz *et al.*, 2019).

La pyroptose est activée par des voies de signalisation canoniques et non canoniques, qui diffèrent par l'utilisation de complexes multi-protéiques cytoplasmiques appelés les inflammasomes (Lamkanfi & Dixit, 2014; Broz & Dixit, 2016) (Figure 3). La voie canonique est dépendante des inflammasomes qui reconnaissent divers signaux de dangers exogènes et endogènes, tels que les DAMP et les molécules associées aux pathogènes (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*, PAMP). Ils se forment à partir d'une protéine de détection appartenant à la famille des protéines contenant un NLR (*Nucleotide-binding domain and Leucine-rich-Repeat-containing*) comme NLRP3, à la famille des récepteurs de type ALR (*AIM2-Like Receptor*) ou aux récepteurs pyrines. Ils contiennent également la protéine adaptatrice ASC (*Apoptosis-associated Speck-like protein containing a CARD*) et un zymogène, le plus souvent la procaspase-1 (Vanaja *et al.*, 2015). Une fois formés, les inflammasomes conduisent à l'activation de la caspase-1 qui clive les formes immatures des cytokines IL-1 β et IL-18. Ensuite, ces cytokines pro-inflammatoires sont libérées à la suite de la formation de pores par le fragment GSDMD^{NT} dans la membrane plasmique. D'autre part, la voie non canonique dépend de la fixation du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries sur le récepteur Toll de type 4 (TLR4) qui permet l'activation de la caspase-11, capable de cliver la GSDMD indépendamment de l'amorçage des inflammasomes. Dans ce cas précis, le fragment GSDMD^{NT} peut activer en retour la voie canonique pour déclencher la maturation et le relargage d'IL-1 β et IL-18 (Lamkanfi & Dixit, 2014; Vanaja *et al.*, 2015; Broz & Dixit, 2016).

La lipotoxicité et les voies de mort cellulaire déclenchent une inflammation chronique du foie qui alimente la transition de la simple stéatose vers la NASH (Farrell *et al.*, 2012; Schuster *et al.*, 2018). À cet égard, l'activation des macrophages résidents et infiltrés est une caractéristique majeure de la survenue de la NASH (Tosello-Trampont *et al.*, 2012). Alors que les macrophages sont connus pour libérer du TNF- α , qui contribue au développement de l'inflammation et à l'activation de la mort cellulaire, il est maintenant établi que les caspases

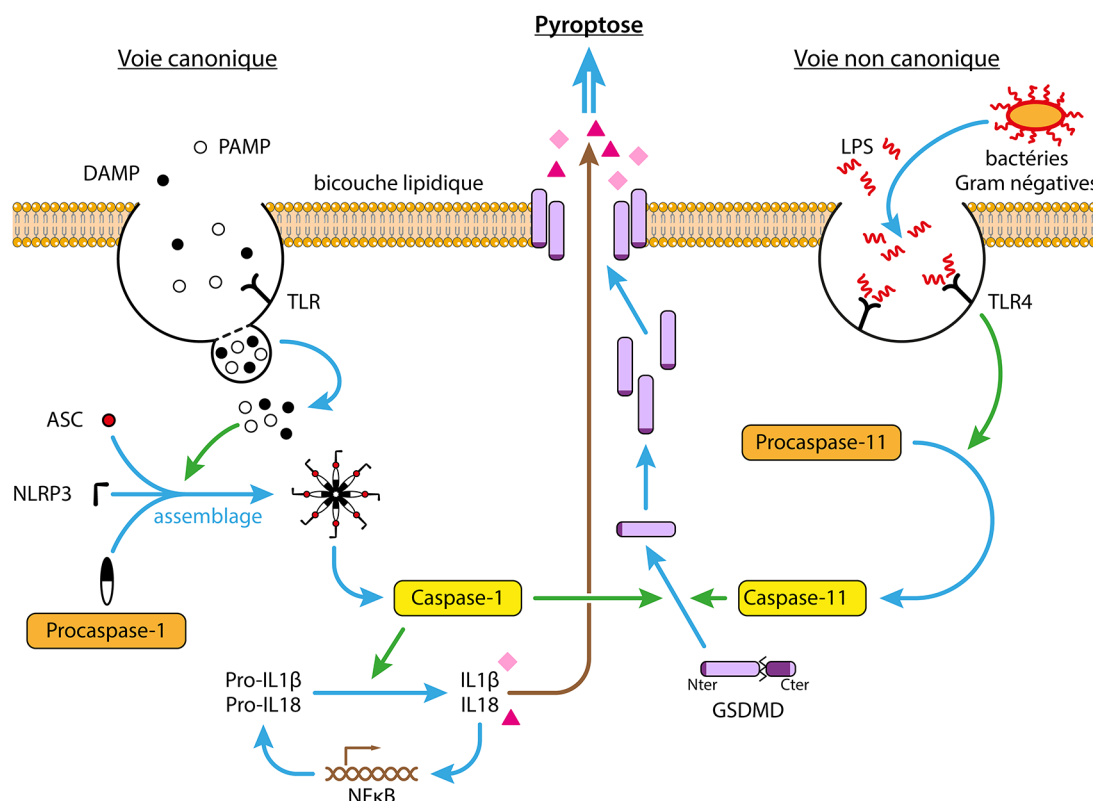


Figure 3. Les voies canonique et non canonique de la pyroptose. Le déclenchement de la pyroptose peut se faire par le biais de deux voies, une voie canonique dépendante des inflammasomes et une voie non canonique indépendante des inflammasomes pour son initiation. La voie canonique est déclenchée par la reconnaissance de signaux de dangers, tels que les DAMP ou PAMP par les différents types d'inflammasomes qui sont constitués par des protéines reconnaissant les signaux de dangers (e.g., ASC, NLRP3) et dont l'assemblage permet l'activation de la procaspase-1. Une fois activée, la caspase-1 permet de cliver et de libérer le fragment N-terminal (GSDMD^{NT}) de la gasdermine D (GSDMD). Ce fragment s'associe à la membrane plasmique pour y former des pores qui provoquent un choc osmotique caractérisé par un gonflement de la cellule. Le relargage du contenu intracellulaire engendre une forte réponse inflammatoire. Une partie de cette réponse inflammatoire est due au fait que la caspase-1 entraîne aussi la maturation des interleukines IL-1 β et IL-18. La voie non canonique, quant à elle, est dépendante de la fixation du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries sur le récepteur Toll de type 4 (TLR4). Cette fixation induit l'activation de la caspase-11 et le clivage de la GSDMD.

inflammatoires, comme la caspase-1 et la caspase-11, jouent un rôle clé en tant que médiateurs de l'inflammation (Tosello-Trampont *et al.*, 2012 ; Shi *et al.*, 2015). La pyroptose serait donc une étape dans le développement de la NAFLD et la progression vers la NASH. L'activation excessive des caspases inflammatoires a été directement impliquée dans la pathogenèse de la NASH chez l'Homme et la souris, où les cytokines pro-inflammatoires libérées pendant la pyroptose apparaissent comme des molécules effectrices clés (Henao-Mejia *et al.*, 2012 ; Szabo & Petrasek, 2015 ; Xu *et al.*, 2018). En effet, l'activation de la signalisation IL-1 β , en aval des inflammasomes, entraîne une inflammation et une fibrose hépatique dans les modèles murins de NASH (Mridha *et al.*, 2017). L'expression de GSDMD^{NT} est positivement corrélée au score inflammatoire et à la fibrose chez les patients atteints de NASH (Xu *et al.*, 2018). D'ailleurs, les souris $\text{GSDMD}^{-/-}$ nourries avec un régime MCD développent une stéatohépatite moindre avec une amélioration notable de l'inflammation et de la teneur en triglycérides hépatiques. De plus, la fibrose hépatique est fortement atténuée chez ces souris (Xu *et al.*, 2018).

Comme dans le cas de l'inhibition de la nécroptose (Majdi *et al.*, 2019), les souris $\text{GSDMD}^{-/-}$ sont également protégées de la stéatose (Xu *et al.*, 2018). La surexpression du fragment GSDMD^{NT} induit spontanément des lésions hépatiques même en l'absence de régime MCD, indiquant que la pyroptose est une voie de mort cellulaire cruciale impliquée dans la pathogenèse de la NASH (Xu *et al.*, 2018). Fait intéressant, les souris possédant spécifiquement dans la lignée myéloïde une version mutée de NLRP3, qui inactive les inflammasomes, présentent une inflammation hépatique et une fibrose moins sévères que les souris sur-exprimant NLRP3 (Wree *et al.*, 2014, 2018). Enfin, sous régime MCD, qui induit la NASH chez les souris sauvages, les souris $\text{NLRP3}^{-/-}$ ne présentent aucun signe clinique de la maladie et aucune mort des hépatocytes (Wree *et al.*, 2014). L'activation des inflammasomes dans les cellules immunitaires pourrait donc être un déclencheur important de la mort des hépatocytes et par conséquent du développement de la NASH.

Pour définir la contribution des différents types cellulaires (macrophages *vs.* hépatocytes) dans la pathogenèse de la NASH, de nouvelles études sont requises avec

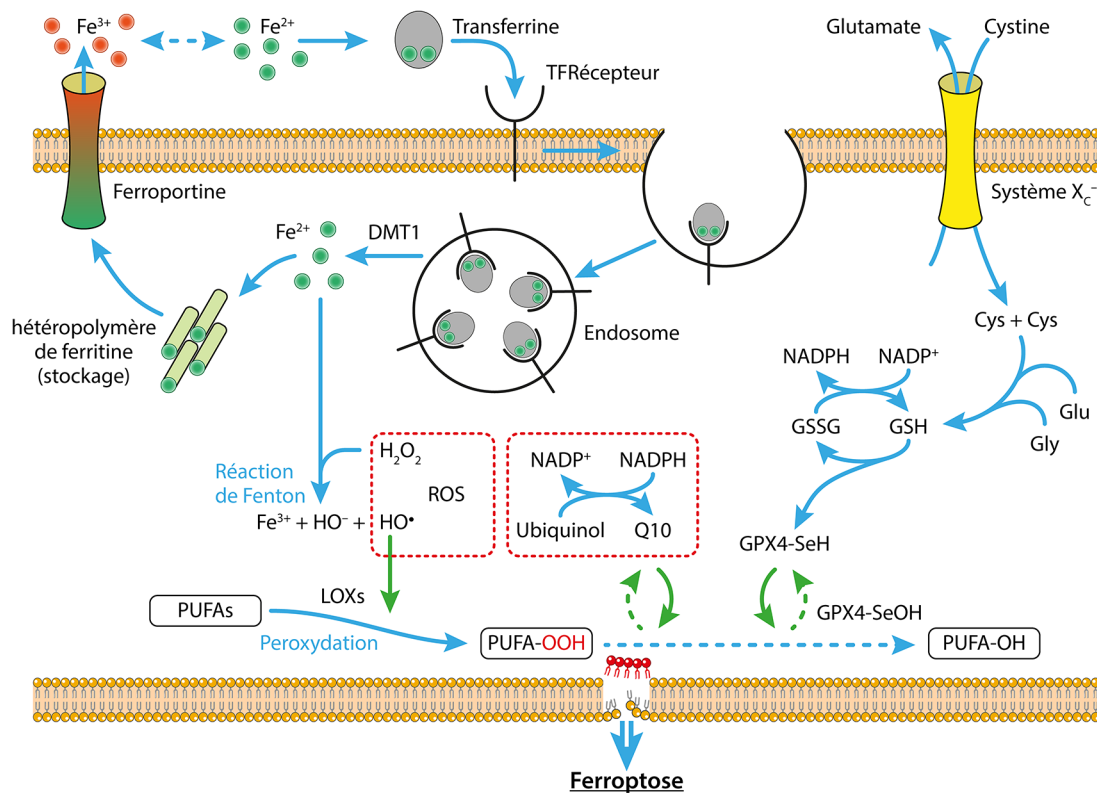


Figure 4. Les voies d'activation de la ferroptose. La transferrine, chargée de deux atomes de fer sous sa forme ferreuse (Fe^{2+}), est endocytée après sa fixation à son récepteur (*Transferrin Receptor*, TFR). Son internalisation est à l'origine de la création d'un stock de fer intracellulaire sous forme d'hétéropolymères de ferritine nécessaire à la survie de la cellule. Dans certaines conditions, l'excès en fer ferreux participe à la génération de radicaux hydroxyles ($\text{HO}^\bullet$) via la réaction de Fenton ($\text{Fe}^{2+}_{(\text{aq})} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+}_{(\text{aq})} + \text{OH}^-_{(\text{aq})} + \text{HO}^\bullet$). Différentes enzymes, telles que les lipoxygénases (LOX), utilisent ces radicaux libres hautement réactifs pour oxyder les acides gras polyinsaturés (PUFA) afin de générer des lipides peroxydés (PUFA-OOH). C'est cette oxydation des lipides membranaires qui est à l'origine de la fragilisation de la membrane plasmique et, à terme, du choc osmotique provoquant l'explosion de la cellule. Cependant, la cellule dispose de mécanismes lui permettant d'empêcher la peroxydation excessive de ses lipides. Le tandem glutathion/glutathion peroxydase (GSH/GPX4) est un élément clef de la détoxification des espèces réactives de l'oxygène (ROS) de la cellule. La biogenèse de GSH nécessite l'entrée de cystine dans la cellule via le système Xc^- . Dès lors, le GSH est utilisé par l'enzyme GPX4 pour transformer une molécule toxique en molécules assimilables ($\text{GSSG} + \text{PUFA-OH} + \text{H}_2\text{O}$) et éviter l'oxydation des lipides de la membrane. Un second mécanisme, parallèle et complémentaire à celui de la GPX4, permet de réduire la peroxydation des lipides. En effet, la voie ubiquinol/NADPH permet de séquestrer les radicaux libres (ubiquinol + $\text{HO}^\bullet \rightarrow \text{Q10}$) afin d'éviter la mort par ferroptose.

une ablation spécifique des médiateurs de la pyroptose, tels que la caspase-1 et la GSDMD. Cependant, une inhibition de cette voie pourrait entraîner un risque accru de développer des infections, les cellules étant privées de leur première ligne de défense face aux pathogènes (*i.e.*, le déclenchement d'une inflammation primaire).

La ferroptose

La ferroptose a été initialement observée en 2003 avec l'utilisation de l'éraستine, un composé chimique induisant spécifiquement la mort des cellules tumorales humaines porteuses d'une mutation oncogénique RAS (Dolma *et al.*, 2003). Le terme « ferroptose » fut introduit en 2012 par le laboratoire de Stockwell pour décrire une mort cellulaire non apoptotique causée par l'accumulation de lipides peroxydés, dépendante du fer et pouvant être induite par l'éraستine (Dixon *et al.*, 2012). La ferroptose, qui intervient principalement dans les mécanismes de suppression des tumeurs, est caractérisée morphologiquement par un

rétrécissement du volume cellulaire et une augmentation de la densité de la membrane mitochondriale, sans manifestations apoptotiques ou nécrotiques typiques (Dixon *et al.*, 2012).

La ferroptose peut être induite de manière canonique par une inactivation directe ou indirecte de la glutathion peroxydase 4 (GPX4), l'enzyme clé protégeant les membranes biologiques contre les dommages liés à la peroxydation des lipides, ou de manière non canonique en augmentant le *pool* labile de fer (Dixon *et al.*, 2012) (Figure 4). La pertinence pathologique de la ferroptose a été évaluée en utilisant la ferrostatine-1 (Fer-1), qui prévient l'accumulation de ROS et la ferroptose induite par l'éraستine (Dixon *et al.*, 2012; Skouta *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2016). Dans la voie canonique, l'éraستine interagit directement avec le transporteur SLC7A5, ce qui perturbe le transport des acides aminés dans la cellule par le système Xc^- (Dixon *et al.*, 2012). Le système transporteur Xc^- est composé de la sous-unité régulatrice SLC3A2 et de la sous-unité catalytique SLC7A11, qui favorise l'absorption

cellulaire de la cystine, le précurseur plasmatique de la cystéine (clivage de la cystine en deux cystéines), par échange avec du glutamate (Lo *et al.*, 2008). Dans les cellules, la cystéine est nécessaire à la synthèse du glutathion (GSH) (Lu, 2013). En bloquant indirectement le transporteur Xc^- , l'érastine inhibe la synthèse de GSH, qui est utilisé par GPX4 pour éliminer la production d'hydroperoxydes phospholipidiques, principaux médiateurs du stress oxydatif durant la ferroptose (Yang *et al.*, 2014).

Les principaux ROS produits par le métabolisme cellulaire ou accumulés lors de la transformation cellulaire (*e.g.*, médiée par RAS) sont l'anion radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence de fer libre (Fe^{2+}), ces ROS sont susceptibles d'être convertis en radical hydroxyle ($HO^{\cdot}$), qui est très réactif vis-à-vis de macromolécules comme les acides gras polyinsaturés (*PolyUnsaturated Fatty Acids*, PUFA). Les réactions impliquant le fer et conduisant aux radicaux hydroxyle ou alcoxyle ($RO^{\cdot}$) sont communément appelées les réactions de Fenton (Feng & Stockwell, 2018). L'oxydation des PUFA par une voie catalytique impliquant un membre de la famille à longue chaîne de l'acyl-CoA synthétase 4 (ACSL4), la lysophosphatidylcholine acyltransférase 3 (LPCAT3), et les lipoxygénases (LOX) sont, en partie, à l'origine des mécanismes de lipotoxicité observés durant la ferroptose (Yang *et al.*, 2016; Doll *et al.*, 2017; Kagan *et al.*, 2017). Par rapport aux autres protéines de sa famille, GPX4 est le seul membre capable de réduire les hydroperoxydes phospholipidiques membranaires, soulignant son rôle clé contre la peroxydation lipidique. Cette dernière contribue à la perméabilisation des membranes plasmiques durant la ferroptose et par conséquent à la libération de DAMP, mais les mécanismes moléculaires en cause ne sont pas encore connus (Dixon *et al.*, 2012). Récemment, la protéine suppresseur de la ferroptose (*Ferroptosis Suppressor Protein 1*, FSP1) a été identifiée comme un élément clé du système antioxydant coenzyme Q10 (CoQ10 aussi appelé ubiquinone) non mitochondrial qui agit en parallèle de la voie canonique GPX4 pour stopper la génération des peroxydes lipidiques (Bersuker *et al.*, 2019; Doll *et al.*, 2019). Dans la voie non canonique, une absorption accrue de fer par le récepteur de la transferrine (*Transferrin Receptor*, TfR) et une exportation réduite de fer par la ferroportine favorisent les dommages oxydatifs et la ferroptose (Gao *et al.*, 2015; Geng *et al.*, 2018).

Les preuves d'un rôle potentiel de la ferroptose dans la NASH sont encore rares. Néanmoins, les produits secondaires de la peroxydation lipidique, tels que le malondialdéhyde et le 4-hydroxynonanal, sont utilisés comme marqueurs de stress oxydatif chez les patients NASH (Loguercio *et al.*, 2001). À l'inverse, la vitamine E, un antioxydant qui réduit la peroxydation lipidique et la concentration sérique d'alanine aminotransférase (ALT), est également un marqueur indirect des dommages aux hépatocytes chez les patients NASH (Sanyal *et al.*, 2010). De plus, l'accumulation de fer due à un dysfonctionnement métabolique aggrave la NASH, comme dans la sidérose hépatique observée chez certains patients NASH (Nelson

et al., 2011). L'hémochromatose primaire aggrave également la NASH (Bonkovsky *et al.*, 1999), tandis que l'élimination du fer améliore les lésions hépatiques et le niveau d'ALT chez ces patients (Valenti *et al.*, 2011). Dans une étude récente, les inhibiteurs de la ferroptose, le trolox et la déféripone, ont supprimé la mort nécrotique des hépatocytes et l'infiltration des cellules immunitaires inflammatoires chez des souris nourries avec un régime déficient en choline et supplémenté en éthionine (*Choline-Deficient, Ethionine supplemented diet*, CDE) (Tsurusaki *et al.*, 2019), modèle murin dans lequel la mort des hépatocytes est un événement précoce du développement de la stéatohépatite (Kohn-Gaone *et al.*, 2016).

Dans l'ensemble, les preuves de l'implication de la ferroptose dans la NASH mériteraient d'être mieux exploitées, par exemple, avec l'utilisation de modèles murins de NASH plus conventionnels (*e.g.*, HFD et MCD) et des souris invalidées pour GPX4.

Conclusion

La découverte de nouvelles voies de mort cellulaire programmée a remis en question toutes nos connaissances quant à leur implication dans la pathogenèse de la NASH. En effet, le passage de la simple stéatose à la NASH semble être médié par l'exécution séquentielle des différentes voies de mort cellulaire. Prise une à une, l'inhibition de ces voies de mort cellulaire améliore drastiquement la santé hépatique dans les différents modèles murins de NASH. Cependant, une inhibition des caspases pro-apoptotiques par l'Emricasan chez les patients atteints de NASH n'a pas entraîné d'améliorations histologiques et a même aggravé la fibrose hépatique, le ballonnement des hépatocytes et le score sérique d'ALT chez ces patients (Harrison *et al.*, 2019). Il se pourrait que l'inhibition des caspases entraîne l'activation d'autres voies de mort cellulaire, et notamment la nécroptose. Des études précliniques plus approfondies sont donc nécessaires afin d'élucider la séquence de ces événements de mort et de mieux caractériser les interactions entre ces voies avant d'envisager des études cliniques chez l'Homme.

L'exemple de la nécroptose permet de mieux illustrer les interconnexions possibles entre les différentes voies de mort cellulaire. RIPK1 contrôle plusieurs voies de signalisation avec des rôles très variés. En premier lieu, elle sert de protéine d'ancrage à la kinase IKK qui permet l'activation du facteur de transcription NF- κ B nécessaire à la survie cellulaire et l'inflammation. En second lieu, lorsque l'activité kinase de RIPK1 est établie, elle contribue au déclenchement de l'apoptose, voire de la nécroptose, lorsque les médiateurs apoptotiques sont inhibés. Par conséquent, cibler RIPK1 pourrait avoir des effets qui restent à explorer (*i.e.*, redirection vers d'autres voies de mort) chez l'homme. Il serait donc préférable de cibler les effecteurs en aval de ces voies tels que MLKL et GSDMD plutôt que des régulateurs comme RIPK1. Récemment, il a été montré que le nécosulfonamide (NSA), un inhibiteur de MLKL, pouvait également se lier à la GSDMD et bloquer la pyroptose (Rathkey *et al.*,

2018). L'utilisation de ce composé permettrait d'inhiber aussi bien la nécroptose que la pyroptose et pourrait être envisagée dans le traitement de la NASH.

L'implication des différentes voies de mort cellulaire dans la pathogenèse de la NASH a pour l'instant été étudiée en utilisant des modèles murins d'invalidation constitutifs. Dans le cas de la nécroptose, le niveau d'expression de RIPK3 dans les hépatocytes est paradoxalement bas par rapport à celui des autres populations cellulaires du foie, par exemple les cholangiocytes et les macrophages (Gautheron *et al.*, 2014 ; Krishna-Subramanian *et al.*, 2019). Il serait donc nécessaire d'explorer les fonctions spécifiques de ces voies de mort cellulaire dans les différentes populations hépatiques *via* l'utilisation de modèles murins conditionnels.

Pour résumer, l'existence de plusieurs formes de mort cellulaire programmée, impliquant des mécanismes moléculaires distincts, est désormais clairement démontrée. Bien que la contribution de ces voies dans la pathogenèse de la NASH doive encore être approfondie, elles devraient offrir de nouvelles opportunités thérapeutiques.

Remerciements. Les auteurs remercient Yves Chrétien pour l'édition des figures. Jérémie Gautheron remercie la Société de Biologie de l'avoir invité à intervenir lors de la Journée Claude Bernard et il tient également à remercier la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM), la Mairie de Paris et la Société Francophone du Diabète (SFD) pour leur soutien financier.

Références

- Afonso, M.B., Rodrigues, P.M., Carvalho, T., Caridade, M., Borralho, P., Cortez-Pinto, H., Castro, R.E., Rodrigues, C.M. (2015). Necroptosis is a key pathogenic event in human and experimental murine models of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Sci (Lond)*, 129, 721-739.
- Ashkenazi, A., Dixit, V.M. (1998). Death receptors: Signaling and modulation. *Science*, 281, 1305-1308.
- Barreiro, F.J., Holod, S., Finocchietto, P.V., Camino, A.M., Aquino, J.B., Avagnina, A., Carreras, M.C., Poderoso, J.J., Gores, G.J. (2015). The pan-caspase inhibitor Emricasan (IDN-6556) decreases liver injury and fibrosis in a murine model of non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int*, 35, 953-966.
- Bergsbaken, T., Fink, S.L., Cookson, B.T. (2009). Pyroptosis: Host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*, 7, 99-109.
- Bersuker, K., Hendricks, J.M., Li, Z., Magtanong, L., Ford, B., Tang, P.H., Roberts, M.A., Tong, B., Maimone, T.J., Zoncu, R., Bassik, M.C., Nomura, D.K., Dixon, S.J., Olzmann, J.A. (2019). The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*, 575, 688-692.
- Bonkovsky, H.L., Jawaid, Q., Tortorelli, K., LeClair, P., Cobb, J., Lambrecht, R.W., Banner, B.F. (1999). Non-alcoholic steatohepatitis and iron: Increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 31, 421-429.
- Broz, P., Dixit, V.M. (2016). Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*, 16, 407-420.
- Broz, P., Pelegrin, P., Shao, F. (2019). The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 3, 143-157.
- Cookson, B.T., Brennan, M.A. (2001). Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol*, 9, 113-114.
- Cory, S., Adams, J.M. (2002). The Bcl2 family: Regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer*, 2, 647-656.
- Degterev, A., Huang, Z., Boyce, M., Li, Y., Jagtap, P., Mizushima, N., Cuny, G.D., Mitchison, T.J., Moskowitz, M.A., Yuan, J. (2005). Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol*, 1, 112-119.
- Dixon, S.J., Lemberg, K.M., Lamprecht, M.R., Skouta, R., Zaitsev, E.M., Gleason, C.E., Patel, D.N., Bauer, A.J., Cantley, A.M., Yang, W.S., Morrison, B. 3rd, Stockwell, B.R. (2012). Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149, 1060-1072.
- Doll, S., Freitas, F.P., Shah, R., Aldrovandi, M., da Silva, M.C., Ingold, I., Grocin, A.G., Xavier da Silva, T.N., Panzilius, E., Scheel, C.H., Morrison, B. 3rd, Stockwell, B.R. (2019). FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*, 575, 693-698.
- Doll, S., Proneth, B., Tyurina, Y.Y., Panzilius, E., Kobayashi, S., Ingold, I., Imler, M., Beckers, J., Aichler, M., Walch, A., Prokisch, H., Trümbach, D., Mao, G., Qu, F., Bayir, H., Füllekrug, J., Scheel, C.H., Wurst, W., Schick, J.A., Kagan, V.E., Angeli, J.P., Conrad, M. (2017). ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nat Chem Biol*, 13, 91-98.
- Dolma, S., Lessnick, S.L., Hahn, W.C., Stockwell, B.R. (2003). Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*, 3, 285-296.
- Dondelinger, Y., Declercq, W., Montessuit, S., Roelandt, R., Goncalves, A., Bruggeman, I., Hulpiau, P., Weber, K., Schon, C.A., Marquis, R.W., Bertin, J., Gough, P.J., Savvides, S., Martinou, J.C., Bertrand, M.J., Vandenabeele, P. (2014). MLKL compromises plasma membrane integrity by binding to phosphatidylinositol phosphates. *Cell Rep*, 7, 971-981.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35, 495-516.
- Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., Nagata, S. (1998). A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature*, 391, 43-50.
- Estaquier, J., Vallette, F., Vayssiere, J.L., Mignotte, B. (2012). The mitochondrial pathways of apoptosis. *Adv Exp Med Biol*, 942, 157-183.
- Farrell, G.C., van Rooyen, D., Gan, L., Chitturi, S. (2012). NASH is an inflammatory disorder: Pathogenic, prognostic and therapeutic implications. *Gut Liver*, 6, 149-171.
- Feldstein, A.E., Canbay, A., Angulo, P., Taniai, M., Burgart, L.J., Lindor, K.D., Gores, G.J. (2003). Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 125, 437-443.
- Feldstein, A.E., Wieckowska, A., Lopez, A.R., Liu, Y.C., Zein, N.N., McCullough, A.J. (2009). Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: A multicenter validation study. *Hepatology*, 50, 1072-1078.
- Feng, H., Stockwell, B.R. (2018). Unsolved mysteries: How does lipid peroxidation cause ferroptosis? *PLoS Biol*, 16, e2006203.
- Feng, S., Yang, Y., Mei, Y., Ma, L., Zhu, D.E., Hoti, N., Castaneres, M., Wu, M. (2007). Cleavage of RIP3 inactivates its caspase-independent apoptosis pathway by removal of kinase domain. *Cell Signal*, 19, 2056-2067.
- Friedman, S.L., Neuschwander-Tetri, B.A., Rinella, M., Sanyal, A.J. (2018). Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*, 24, 908-922.

- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S.A., Abrams, J.M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E.S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D.W., *et al.* (2018). Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*, 25, 486-541.
- Gao, M., Monian, P., Quadri, N., Ramasamy, R., Jiang, X. (2015). Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis. *Mol Cell*, 59, 298-308.
- Garcia-Tsao, G., Bosch, J., Kayali, Z., Harrison, S.A., Abdelmalek, M.F., Lawitz, E., Satapathy, S.K., Ghabril, M., Shiffman, M.L., Younes, Z.H., Thuluvath, P.J., Berzigotti, A., Albillos, A., Robinson, J.M., Hagerty, D.T., Chan, J.L., Sanyal, A.J., IDN-6556-14 Investigators (†). (2019). Randomized placebo-controlled trial of Emricasan in Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH) cirrhosis with severe portal hypertension. *J Hepatol*, DOI: [10.1016/j.jhep.2019.12.010](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.12.010).
- Gautheron, J., Vucur, M., Reisinger, F., Cardenas, D.V., Roderburg, C., Koppe, C., Kreggenwinkel, K., Schneider, A.T., Bartneck, M., Neumann, U.P., Canbay, A., Reeves, H. L., Luedde, M., Tacke, F., Trautwein, C., Heikenwalder, M., Luedde, T. (2014). A positive feedback loop between RIP3 and JNK controls non-alcoholic steatohepatitis. *EMBO Mol Med*, 6, 1062-1074.
- Gautheron, J., Vucur, M., Luedde, T. (2015). Necroptosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 1, 264-265.
- Gautheron, J., Vucur, M., Schneider, A.T., Severi, I., Roderburg, C., Roy, S., Bartneck, M., Schrammen, P., Diaz, M.B., Ehling, J., Gremse, F., Heymann F., Koppe, C., Lammers, T., Kiessling, F., Van Best, N., Pabst, O., Courtois, G., Linkermann, A., Krautwald, S., Neumann, U.P., Tacke, F., Trautwein, C., Green, D.R., Longerich, T., Frey, N., Luedde, M., Bluher, M., Herzig, S., Heikenwalder, M., Luedde, T. (2016). The necroptosis-inducing kinase RIPK3 dampens adipose tissue inflammation and glucose intolerance. *Nat Commun*, 7, 11869.
- Geng, N., Shi, B.J., Li, S.L., Zhong, Z.Y., Li, Y.C., Xua, W.L., Zhou, H., Cai, J.H. (2018). Knockdown of ferroportin accelerates erastin-induced ferroptosis in neuroblastoma cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22, 3826-3836.
- Guicciardi, M.E., Gores, G.J. (2009). Life and death by death receptors. *FASEB J*, 23, 1625-1637.
- Harrison, S.A., Goodman, Z., Jabbar, A., Vemulapalli, R., Younes, Z.H., Freilich, B., Sheikh, M.Y., Schattenberg, J.M., Kayali, Z., Zivony, A., Sheikh, A., Garcia-Samaniego, J., Satapathy, S.K., Therapondos, G., Mena, E., Schuppan, D., Robinson, J., Chan, J.L., Hagerty, D.T., Sanyal, A.J. (2019). A randomized, placebo-controlled trial of Emricasan in patients with NASH and F1-F3 fibrosis. *J Hepatol*, DOI: [10.1016/j.jhep.2019.11.024](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.11.024).
- Hatting, M., Zhao, G., Schumacher, F., Sellge, G., Al Masaoudi, M., Gabetaler, N., Boekschoten, M., Muller, M., Liedtke, C., Cubero, F.J., Trautwein, C. (2013). Hepatocyte caspase-8 is an essential modulator of steatohepatitis in rodents. *Hepatology*, 57, 2189-2201.
- He, S., Wang, L., Miao, L., Wang, T., Du, F., Zhao, L., Wang, X. (2009). Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF-alpha. *Cell*, 137, 1100-1111.
- Henao-Mejia, J., Elinav, E., Jin, C., Hao, L., Mehal, W.Z., Strwig, T., Thaiss, C.A., Kau, A.L., Eisenbarth, S.C., Jurczak, M.J., Camporez, J.P., Shulman, G.I., Gordon, J.I., Hoffman, H.M., Flavell, R.A. (2012). Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature*, 482, 179-185.
- Hildebrand, J.M., Tanzer, M.C., Lucet, I.S., Young, S.N., Spall, S.K., Sharma, P., Pierotti, C., Garnier, J.M., Dobson, R.C., Webb, A.I., Tripaydonis, A., Babon, J.J., Mulcair, M.D., Scanlon, M.J., Alexander, W.S., Wilks, A.F., Czabotar, P.E., Lessene, G., Murphy, J.M., Silke, J. (2014). Activation of the pseudokinase MLKL unleashes the four-helix bundle domain to induce membrane localization and necroptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111, 15072-15077.
- Holler, N., Zaru, R., Micheau, O., Thome, M., Attinger, A., Valitutti, S., Bodmer, J.L., Schneider, P., Seed, B., Tschoop, J. (2000). Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nat Immunol*, 1, 489-495.
- Joza, N., Susin, S.A., Daugas, E., Stanford, W.L., Cho, S.K., Li, C.Y., Sasaki, T., Elia, A.J., Cheng, H.Y., Ravagnan, L., Ferri, K.F., Zamzami, N., Wakeham, A., Hakem, R., Yoshida, H., Kong, Y.Y., Mak, T.W., Zúñiga-Pflücker, J.C., Kroemer, G., Penninger, J.M. (2001). Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*, 410, 549-554.
- Kagan, V.E., Mao, G., Qu, F., Angeli, J.P., Doll, S., Croix, C.S., Dar, H.H., Liu, B., Tyurin, V.A., Ritov, V.B., Kapralov, A.A., Amoscato, A.A., Jiang, J., Anthonymuthu, T., Mohammadyani, D., Yang, Q., Proneth, B., Klein-Seetharaman, J., Watkins, S., Bahar, I., Greenberger, J., Mallampalli, R.K., Stockwell, B.R., Tyurina, Y.Y., Conrad, M., Bayır, H. (2017). Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol*, 13, 81-90.
- Kayagaki, N., Warming, S., Lamkanfi, M., Vande Walle, L., Louie, S., Dong, J., Newton, K., Qu, Y., Liu, J., Heldens, S., Zhang, J., Lee, W.P., Roose-Girma, M., Dixit, V.M. (2011). Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 479, 117-121.
- Kayagaki, N., Stowe, I.B., Lee, B.L., O'Rourke, K., Anderson, K., Warming, S., Cuellar, T., Haley, B., Roose-Girma, M., Phung, Q.T., Liu, P.S., Lill, J.R., Li, H., Wu, J., Kummerfeld, S., Zhang, J., Lee, W.P., Snipas, S.J., Salvesen, G.S., Morris, L.X., Fitzgerald, L., Zhang, Y., Bertram, E.M., Goodnow, C. C., Dixit, V.M. (2015). Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 526, 666-671.
- Kerr, J.F. (2002). History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology*, 181-182, 471-474.
- Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R. (1972). Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26, 239-257.
- Kohn-Gaone, J., Dwyer, B.J., Grzelak, C.A., Miller, G., Shackel, N.A., Ramm, G.A., McCaughan, G.W., Elsegood, C.L., Olynyk, J.K., Tirnitz-Parker, J.E.E. (2016). Divergent inflammatory, fibrogenic, and liver progenitor cell dynamics in two common mouse models of chronic liver injury. *Am J Pathol*, 186, 1762-1774.
- Krishna-Subramanian, S., Singer, S., Armaka, M., Banales, J. M., Holzer, K., Schirmacher, P., Walczak, H., Kollias, G., Pasparakis, M., Kondylis, V. (2019). RIPK1 and death receptor signaling drive biliary damage and early liver tumorigenesis in mice with chronic hepatobiliary injury. *Cell Death Differ*, 26, 2710-2726.
- Lamkanfi, M., Dixit, V.M. (2014). Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, 157, 1013-1022.
- Li, L.Y., Luo, X., Wang, X. (2001). Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412, 95-99.
- Lin, Y., Devin, A., Rodriguez, Y., Liu, Z.G. (1999). Cleavage of the death domain kinase RIP by caspase-8 prompts TNF-induced apoptosis. *Genes Dev*, 13, 2514-2526.
- Lo, M., Wang, Y.Z., Gout, P.W. (2008). The x(c)- cystine/ glutamate antiporter: A potential target for therapy of cancer and other diseases. *J Cell Physiol*, 215, 593-602.

- Loguercio, C., De Girolamo, V., de Sio, I., Tuccillo, C., Ascione, A., Baldi, F., Budillon, G., Cimino, L., Di Carlo, A., Di Marino, M.P., Morisco, F., Picciotto, F., Terracciano, L., Vecchione, R., Verde, V., Del Vecchio Blanco, C. (2001). Non-alcoholic fatty liver disease in an area of southern Italy: Main clinical, histological, and pathophysiological aspects. *J Hepatol*, 35, 568-574.
- Lu, S.C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta*, 1830, 3143-3153.
- Luedde, T., Kaplowitz, N., Schwabe, R.F. (2014). Cell death and cell death responses in liver disease: Mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology*, 147, 765-783 e764.
- Machado, M.V., Michelotti, G.A., de Almeida Pereira, T.A., Boursier, J., Kruger, L., Swiderska-Syn, M., Karaca, G., Xie, G., Guy, C.D., Bohinc, B., Lindblom, K.R., Johnson, E., Kornbluth, S., Diehl, A.M. (2015). Reduced lipooapoptosis, hedgehog pathway activation and fibrosis in caspase-2 deficient mice with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*, 64, 1148-1157.
- Machado, M.V., Michelotti, G.A., Jewell, M.L., Pereira, T.A., Xie, G., Premont, R.T., Diehl, A.M. (2016). Caspase-2 promotes obesity, the metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Death Dis*, 7, e2096.
- Majidi, A., Aoudjehane, L., Ratzl, V., Islam, T., Afonso, M.B., Conti, F., Mestiri, T., Lagouge, M., Foufelle, F., Ballenghien, F., Ledent, T., Moldes, M., Cadoret, A., Fouassier, L., Delaunay, J.L., Ait-Slimane, T., Courtois, G., Fève, B., Scatton, O., Prip-Buus, C., Rodrigues, C.M.P., Housset, C., Gautheron, J. (2019). Inhibition of receptor-interacting protein kinase 1 improves experimental non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, DOI: [10.1016/j.jhep.2019.11.008](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.11.008).
- Mandal, P., Berger, S.B., Pillay, S., Moriwaki, K., Huang, C., Guo, H., Lich, J.D., Finger, J., Kasparcova, V., Votta, B., Ouellette, M., King, B.W., Wisnoski, D., Lakdawala, A.S., DeMartino, M.P., Casillas, L.N., Haile, P.A., Sehon, C.A., Marquis, R.W., Upton, J., Daley-Bauer, L.P., Roback, L., Ramia, N., Dovey, C.M., Carette, J.E., Chan, F.K., Bertin, J., Gough, P.J., Mocarski, E.S., Kaiser, W.J. (2014). RIP3 induces apoptosis independent of pronecrotic kinase activity. *Mol Cell*, 56, 481-495.
- Mompean, M., Li, W., Li, J., Laage, S., Siemer, A.B., Bozkurt, G., Wu, H., McDermott, A.E. (2018). The structure of the necrosome RIPK1-RIPK3 core, a human hetero-amyloid signaling complex. *Cell*, 173, 1244-1253 e1210.
- Mridha, A.R., Wree, A., Robertson, A.A.B., Yeh, M.M., Johnson, C.D., Van Rooyen, D.M., Haczeyni, F., Teoh, N. C., Savard, C., Ioannou, G.N., Masters, S.L., Schroder, K., Cooper, M.A., Feldstein, A.E., Farrell, G.C. (2017). NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *J Hepatol*, 66, 1037-1046.
- Nelson, J.E., Wilson, L., Brunt, E.M., Yeh, M.M., Kleiner, D. E., Unalp-Arida, A., Kowdley, K.V., Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network (2011). Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 53, 448-457.
- Newton, K., Dugger, D.L., Wickliffe, K.E., Kapoor, N., de Almagro, M.C., Vucic, D., Komuves, L., Ferrando, R.E., French, D.M., Webster, J., Roose-Girma, M., Warming, S., Dixit, V.M. (2014). Activity of protein kinase RIPK3 determines whether cells die by necroptosis or apoptosis. *Science*, 343, 1357-1360.
- Orning, P., Lien, E., Fitzgerald, K.A. (2019). Gasdermins and their role in immunity and inflammation. *J Exp Med*, 216, 2453-2465.
- Rathkey, J.K., Zhao, J., Liu, Z., Chen, Y., Yang, J., Kondolf, H. C., Benson, B.L., Chirieleison, S.M., Huang, A.Y., Dubyak, G.R., Xiao, T.S., Li, X., Abbott, D.W. (2018). Chemical disruption of the pyroptotic pore-forming protein gasdermin D inhibits inflammatory cell death and sepsis. *Sci Immunol*, 3 (26): eaat2738.
- Ratzl, V., Sheikh, M.Y., Sanyal, A.J., Lim, J.K., Conjeevaram, H., Chalasani, N., Abdelmalek, M., Bakken, A., Renou, C., Palmer, M., Levine, R.A., Bhandari, B.R., Cornpropst, M., Liang, W., King, B., Mondou, E., Rousseau, F.S., McHutchison, J., Chojkier, M. (2012). A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study of GS-9450 in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 55, 419-428.
- Ray, C.A., Pickup, D.J. (1996). The mode of death of pig kidney cells infected with cowpox virus is governed by the expression of the crmA gene. *Virology*, 217, 384-391.
- Rogers, C., Fernandes-Alnemri, T., Mayes, L., Alnemri, D., Cingolani, G., Alnemri, E.S. (2017). Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death. *Nat Commun*, 8, 14128.
- Roychowdhury, S., McCullough, R.L., Sanz-Garcia, C., Saikia, P., Alkhouri, N., Matloob, A., Pollard, K.A., McMullen, M. R., Croniger, C.M., Nagy, L.E. (2016). Receptor interacting protein 3 protects mice from high-fat diet-induced liver injury. *Hepatology*, 64, 1518-1533.
- Saeed, W.K., Jun, D.W., Jang, K., Oh, J.H., Chae, Y.J., Lee, J. S., Koh, D.H., Kang, H.T. (2019). Decrease in fat de novo synthesis and chemokine ligand expression in non-alcoholic fatty liver disease caused by inhibition of mixed lineage kinase domain-like pseudokinase. *J Gastroenterol Hepatol*, 34, 2206-2218.
- 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., NASH, CRN. (2010). Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*, 362, 1675-1685.
- Schuster, S., Cabrera, D., Arrese, M., Feldstein, A.E. (2018). Triggering and resolution of inflammation in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 15, 349-364.
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, Y., Gao, W., Ding, J., Li, P., Hu, L., Shao, F. (2014). Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 514, 187-192.
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Huang, H., Zhuang, Y., Cai, T., Wang, F., Shao, F. (2015). Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 526, 660-665.
- Skouta, R., Dixon, S.J., Wang, J., Dunn, D.E., Orman, M., Shimada, K., Rosenberg, P.A., Lo, D.C., Weinberg, J.M., Linkermann, A., Stockwell, B.R. (2014). Ferrostatins inhibit oxidative lipid damage and cell death in diverse disease models. *J Am Chem Soc*, 136, 4551-4556.
- Sun, L., Wang, H., Wang, Z., He, S., Chen, S., Liao, D., Wang, L., Yan, J., Liu, W., Lei, X., Wang, X. (2012). Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. *Cell*, 148, 213-227.
- Szabo, G., Petrasek, J. (2015). Inflammasome activation and function in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12, 387-400.
- Tang, D., Kang, R., Berghe, T.V., Vandenabeele, P., Kroemer, G. (2019). The molecular machinery of regulated cell death. *Cell Res*, 29, 347-364.
- Tao, L., Yi, Y., Chen, Y., Zhang, H., Jie, J., Zhang, W., Xu, Q., Li, Y., Orning, P., Lien, E., Zhao, M., Ling, L., Ding, Z., Wu, C., Ding, Q., Wang, J., Zhang, J., Weng, D. (2020). RIP1

- kinase activity promotes steatohepatitis through mediating cell death and inflammation in macrophages. *bioRxiv*, DOI: [10.1101/2020.01.07.895516](https://doi.org/10.1101/2020.01.07.895516).
- Tenev, T., Bianchi, K., Darding, M., Broemer, M., Langlais, C., Wallberg, F., Zachariou, A., Lopez, J., MacFarlane, M., Cain, K., Meier, P. (2011). The Ripoptosome, a signaling platform that assembles in response to genotoxic stress and loss of IAPs. *Mol Cell*, 43, 432-448.
- Thapaliya, S., Wree, A., Povero, D., Inzaugarat, M.E., Berk, M., Dixon, L., Papouchado, B.G., Feldstein, A.E. (2014). Caspase 3 inactivation protects against hepatic cell death and ameliorates fibrogenesis in a diet-induced NASH model. *Dig Dis Sci*, 59, 1197-1206.
- Tosello-Trampont, A.C., Landes, S.G., Nguyen, V., Novobrantseva, T.I., Hahn, Y.S. (2012). Kupffer cells trigger non-alcoholic steatohepatitis development in diet-induced mouse model through tumor necrosis factor- α production. *J Biol Chem*, 287, 40161-40172.
- Tsochatzis, E.A., Newsome, P.N. (2018). Non-alcoholic fatty liver disease and the interface between primary and secondary care. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 3, 509-517.
- Tsurusaki, S., Tsuchiya, Y., Koumura, T., Nakasone, M., Sakamoto, T., Matsuoka, M., Imai, H., Yuet-Yin Kok, C., Okochi, H., Nakano, H., Miyajima, A., Tanaka, M. (2019). Hepatic ferroptosis plays an important role as the trigger for initiating inflammation in nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Death Dis*, 10, 449.
- Valenti, L., Moscattello, S., Vanni, E., Fracanzani, A.L., Bugianesi, E., Fargion, S., Marchesini, G. (2011). Venesection for non-alcoholic fatty liver disease unresponsive to lifestyle counselling—a propensity score-adjusted observational study. *QJM*, 104, 141-149.
- van Loo, G., Saelens, X., van Gurp, M., MacFarlane, M., Martin, S.J., Vandenabeele, P. (2002a). The role of mitochondrial factors in apoptosis: A Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ*, 9, 1031-1042.
- van Loo, G., van Gurp, M., Depuydt, B., Srinivasula, S.M., Rodriguez, I., Alnemri, E.S., Gevaert, K., Vandekerckhove, J., Declercq, W., Vandenabeele, P. (2002b). The serine protease Omi/HtrA2 is released from mitochondria during apoptosis. Omi interacts with caspase-inhibitor XIAP and induces enhanced caspase activity. *Cell Death Differ*, 9, 20-26.
- Vanaja, S.K., Rathinam, V.A., Fitzgerald, K.A. (2015). Mechanisms of inflammasome activation: Recent advances and novel insights. *Trends Cell Biol*, 25, 308-315.
- Vanden Berghe, T., Linkermann, A., Jouan-Lanhout, S., Walczak, H., Vandenabeele, P. (2014). Regulated necrosis: The expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15, 135-147.
- Vanden Berghe, T., Kaiser, W.J., Bertrand, M.J., Vandenabeele, P. (2015). Molecular crosstalk between apoptosis, necroptosis, and survival signaling. *Mol Cell Oncol*, 2, e975093.
- Vercammen, D., Beyaert, R., Denecker, G., Goossens, V., Van Loo, G., Declercq, W., Grooten, J., Fiers, W., Vandenabeele, P. (1998). Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor. *J Exp Med*, 187, 1477-1485.
- Wang, Y., Gao, W., Shi, X., Ding, J., Liu, W., He, H., Wang, K., Shao, F. (2017). Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature*, 547, 99-103.
- Witek, R.P., Stone, W.C., Karaca, F.G., Syn, W.K., Pereira, T. A., Agboola, K.M., Omenetti, A., Jung, Y., Teaberry, V., Choi, S.S., Guy, C.D., Pollard, J., Charlton, P., Diehl, A.M. (2009). Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 50, 1421-1430.
- Wree, A., Eguchi, A., McGeough, M.D., Pena, C.A., Johnson, C. D., Canbay, A., Hoffman, H.M., Feldstein, A.E. (2014). NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology*, 59, 898-910.
- Wree, A., McGeough, M.D., Inzaugarat, M.E., Eguchi, A., Schuster, S., Johnson, C.D., Pena, C.A., Geisler, L.J., Papouchado, B.G., Hoffman, H.M., Feldstein, A.E. (2018). NLRP3 inflammasome driven liver injury and fibrosis: Roles of IL-17 and TNF in mice. *Hepatology*, 67, 736-749.
- Xie, Y., Hou, W., Song, X., Yu, Y., Huang, J., Sun, X., Kang, R., Tang, D. (2016). Ferroptosis: Process and function. *Cell Death Differ*, 23, 369-379.
- Xu, B., Jiang, M., Chu, Y., Wang, W., Chen, D., Li, X., Zhang, Z., Zhang, D., Fan, D., Nie, Y., Shao, F., Wu, K., Liang, J. (2018). Gasdermin D plays a key role as a pyroptosis executor of non-alcoholic steatohepatitis in humans and mice. *J Hepatol*, 68, 773-782.
- Xu, H., Du, X., Liu, G., Huang, S., Du, W., Zou, S., Tang, D., Fan, C., Xie, Y., Wei, Y., Tian, Y., Fu, X. (2019). The pseudokinase MLKL regulates hepatic insulin sensitivity independently of inflammation. *Mol Metab*, 23, 14-23.
- Yang, W.S., SriRamaratnam, R., Welsch, M.E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V.S., Cheah, J.H., Clemons, P.A., Shamji, A.F., Clish, C.B., Brown, LM, Girotti, AW, Cornish, VW, Schreiber, SL, Stockwell, B.R. (2014). Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 156, 317-331.
- Yang, W.S., Kim, K.J., Gaschler, M.M., Patel, M., Shchepinov, M.S., Stockwell, B.R. (2016). Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113, E4966-4975.
- Zhang, D.W., Shao, J., Lin, J., Zhang, N., Lu, B.J., Lin, S.C., Dong, M.Q., Han, J. (2009). RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. *Science*, 325, 332-336.
- Zychlinsky, A., Prevost, M.C., Sansonetti, P.J. (1992). *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*, 358, 167-169.

Citation de l'article : Magusto, J., Majdi, A., et Gautheron, J. (2020). Les mécanismes de mort cellulaire dans la stéatohépatite non alcoolique. *Biologie Aujourd'hui*, 214, 1-13