

Ruolo dei farmaci non antidiabete nel trattamento della NAFLD

Maurizio Russello¹, Maria Luisa Arpi²

¹UOSD Epatologia, ARNAS Garibaldi, Catania; ²UOC Endocrinologia, ARNAS Garibaldi, Catania

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2102c>

INTRODUZIONE

La malattia da accumulo di grasso nel fegato (NAFLD) rappresenta la prima causa di epatopatia cronica nella maggior parte dei paesi occidentali e in Asia, con una prevalenza del 25-30% nella popolazione generale (1). La steatoepatite non alcolica (NASH) è la forma avanzata di NAFLD, con una prevalenza globale stimata di 1,5-6,5% (2). La frequenza di NAFLD è in continuo aumento a causa dell'epidemia di obesità e diabete mellito di tipo 2 (DMT2). La prevalenza di NAFLD aumenta notevolmente nei pazienti con DMT2 (>60%) e nei pazienti obesi (>90%), così come la presenza di NAFLD aumenta il rischio di insorgenza nel tempo di DMT2, anche in assenza di sovrappeso, a conferma della stretta correlazione tra le due condizioni (2).

È stato recentemente proposto, ma è ancora dibattuto, l'utilizzo del termine *Metabolic-Associated Fatty Liver Disease* (MAFLD), in sostituzione di NAFLD, e la modifica dei criteri diagnostici: presenza di steatosi epatica e di almeno due condizioni tra sovrappeso/obesità, T2DM e alterazioni metaboliche, indipendentemente dal consumo di alcol (3).

La NASH si caratterizza per la comparsa di danno epato-cellulare che determina, a cascata, infiammazione, secrezione di citochine e attivazione dell'apoptosi epatica. Questi fenomeni sono responsabili dell'attivazione delle cellule stellate, implicate nel rilascio e accumulo di ma-

trice extra-cellulare, alla base dei meccanismi di fibrogenesi epatica.

Negli ultimi anni è emerso l'importante ruolo della alterazione del microbiota intestinale nel determinismo della NAFLD e nella progressione a NASH.

Ciascuno dei processi descritti in estrema sintesi rappresenta un potenziale target di terapie farmacologiche della NASH.

Nel paziente con NAFLD la malattia cardiovascolare (CV) è la prima causa di morte.

FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID (www.fad.siditalia.it).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line al quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

Per ulteriori informazioni: www.fad.siditalia.it

Tabella 1 ♦ **Percorso regolatorio per l'approvazione di terapie per la NASH**

NASH CON FIBROSI	CIRROSI
Percorso accelerato	
• Risoluzione della steatoepatite, senza peggioramento della fibrosi	Miglioramento della fibrosi
e/o	Riduzione degli <i>outcomes</i> clinici
• Miglioramento della fibrosi (di almeno 1 stadio) senza peggioramento dell'attività infiammatoria	Riduzione della necessità di trapianto epatico Riduzione della mortalità
Estensione dello studio a lungo termine	
• Riduzione della progressione a cirrosi • Riduzione degli <i>outcomes</i> clinici	

La progressione da steatosi semplice a steatoepatite aumenta invece il rischio di mortalità per cause epatiche (4). Anche il rischio di epatocarcinoma (HCC) cresce progressivamente in presenza di NASH e cirrosi (5), che sono tra le principali cause di trapianto epatico (6).

I dati epidemiologici attuali consentono di prevedere che la cura della NAFLD richiederà un impegno di risorse sempre maggiori e difficilmente sostenibili per i sistemi sanitari (7).

POPOLAZIONE TARGET E ENDPOINTS DELLA TERAPIA FARMACOLOGICA

La mortalità fegato-correlata è bassa nei pazienti con semplice steatosi, mentre aumenta in presenza di steatoepatite, con o senza fibrosi. La progressione del danno epatico in fibrosi avanzata, cirrosi e HCC aumenta anche il rischio CV (2).

Pertanto, l'obiettivo più urgente è identificare i pazienti a maggior rischio evolutivo, che necessitano di un trattamento farmacologico in grado di prevenire gli *outcomes* clinici e ridurre la mortalità.

In mancanza di biomarcatori non invasivi, la biopsia epatica è ancora oggi il *gold standard* per la diagnosi di infiammazione e di fibrosi, nonostante i limiti di variabilità dipendenti dal campionamento e dall'osservatore (2, 8).

Il criterio di classificazione maggiormente utilizzato (9) per la caratterizzazione delle diverse componenti della NAFLD si basa su:

- NAFLD activity score (NAS), indice ricavato dalla presenza di steatosi macrovescicolare (0-3), ballooning epatocellulare (0-2) e infiammazione lobulare (0-3): diagnosi di NASH con punteggio ≥ 5

- la fibrosi viene suddivisa in 4 stadi (0 = assenza di fibrosi; 4 = cirrosi).

La standardizzazione del referto istologico è utile non solo nella pratica clinica, ma anche per lo sviluppo di nuovi farmaci e per la corretta valutazione della loro efficacia nei trials clinici registrativi (10).

La NAFLD è stata definita una “epidemia silente” perché quasi sempre asintomatica, anche nelle fasi più avanzate. L'aumento delle transaminasi, generalmente utilizzato per selezionare i pazienti da riferire allo specialista epatologo, non sempre è correlato a maggior rischio di danno epatico, infatti pazienti con fibrosi anche avanzata possono presentarsi con transaminasi nel range della norma.

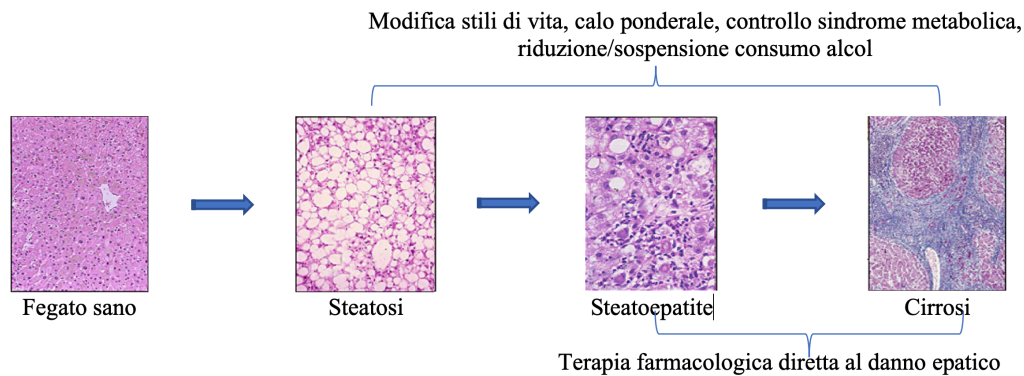
Per ridurre il ricorso alla biopsia è necessario selezionare i pazienti a maggior rischio di steatoepatite e di fibrosi da riferire ai centri di secondo livello.

Tra i numerosi score non invasivi proposti, i più semplici sono il NAFLD Fibrosis Score (NFS) e il Fibrosis-4 index (FIB-4), che, in combinazione sequenziale con la misurazione della stiffness epatica mediante elastografia (LSM, Fibroscan®), sono in grado di identificare con elevata accuratezza i pazienti con fibrosi avanzata e cirrosi (11).

Le linee guida del 2018 delle maggiori agenzie del farmaco (FDA ed EMA) richiedono l'inclusione di pazienti con fibrosi di grado ≥ 2 alla biopsia nei trials registrativi dei farmaci per il trattamento della NASH.

Perché il farmaco sia considerato efficace nei pazienti con fibrosi avanzata deve migliorare gli *outcomes* fegato-correlati: complicanze gravi della cirrosi, morte, trapianto.

Poiché la dimostrazione di questi obiettivi potrebbe richiedere una lunga osservazione (a causa della lenta progressione della malattia epatica), è previsto un percorso accelerato per favorire la ricerca e lo sviluppo di terapie per una

Figura 1 ♦ Gestione terapeutica del paziente con NAFLD in base al diverso stadio del danno epatico (2, 8)

patologia che in atto non ha cure efficaci: il farmaco deve dimostrare di essere in grado a breve termine di risolvere la steatoepatite, senza peggiorare la fibrosi o di ridurre la fibrosi di almeno un grado senza peggiorare l'attività infiammatoria, e a lungo termine di rallentare o prevenire la progressione a cirrosi e ridurre gli outcomes clinici (Tab. 1).

TERAPIA ATTUALE DELLA NAFLD

Modifica degli stili di vita e calo ponderale (Fig.1)

Allo stato attuale il calo ponderale, ottenuto con la modifica degli stili di vita (riduzione dell'apporto calorico, dieta mediterranea e regolare attività fisica aerobica o di resistenza) o con la chirurgia bariatrica, rappresenta l'unico intervento efficace nel trattamento della NAFLD (2, 8). Una riduzione $\geq 5\%$ del peso permette di migliorare la steatosi e l'infiammazione, mentre il calo ponderale $\geq 10\%$ è in grado di risolvere la NASH e ridurre la fibrosi. Purtroppo non oltre il 50% dei pazienti raggiunge questi obiettivi (12).

Vitamina E

Lo stress ossidativo è uno dei meccanismi alla base del danno epatocellulare in corso di NASH. La vitamina E, agente antiossidante, ha dimostrato effetti positivi sulla steatosi epatica in modelli animali di NASH, bloccando l'apoptosi, riducendo lo stress ossidativo e migliorando il metabolismo glucidico e lipidico.

La vitamina E (800 UI/die per 96 settimane) è stata confrontata al placebo in pazienti adulti con NASH istologica nel trial PIVENS (Pioglitazone vs Vitamin E vs Placebo for Treatment of Non-Diabetic Patients With Nonalcoholic

Steatohepatitis), dimostrando una significativa riduzione delle transaminasi, della steatosi, dell'infiammazione e del *ballooning*, ma nessun effetto sulla fibrosi (13). Analoghi risultati sono stati ottenuti nella popolazione pediatrica (14).

Non sono disponibili dati sufficienti sull'utilizzo di vitamina E per lungo tempo, essendo stato segnalato un aumentato rischio di cancro della prostata e di stroke emorragico, nonostante una recente meta-analisi abbia escluso un aumento di mortalità per tutte le cause (15).

Le linee guida AASLD (*American Association for the Study of Liver Disease*) consigliano l'uso della vitamina E esclusivamente in pazienti non diabetici, con NASH senza cirrosi, valutando in ogni singolo paziente rischi e benefici (2). Anche le linee guida EASL (*European Association for the Study of the Liver*) (8) considerano l'utilizzo della vitamina E in pazienti con NASH, segnalando l'incertezza dei dati di sicurezza ed efficacia nel lungo periodo.

Pioglitazone

Il pioglitazone, agonista intra-nucleare di PPAR γ , è in grado di modulare il segnale insulinico, stimolare l'uptake adipocitario degli acidi grassi (distribuendo il grasso a livello sottocutaneo e riducendo la steatosi epatica), regolare i processi di infiammazione e fibrosi epatica. Nel trial PIVENS il pioglitazone (30 mg/die per 2 anni), confrontato al placebo e alla vitamina E, in pazienti con NASH non diabetici, riduceva significativamente i livelli di transaminasi, steatosi e infiammazione, senza alcun effetto sulla fibrosi (13). Dati confermati anche in studi successivi (16). Il pioglitazone è associato a seppur modesto incremento ponderale e aumentato rischio di osteoporosi nel

Tabella 2 ♦ Farmaci attualmente utilizzati per il trattamento della NASH

FARMACO TRIAL	MECCANISMO D'AZIONE PRINCIPALE	RISULTATI	RACCOMANDAZIONI AASLD (2)	RACCOMANDAZIONI EASL-EASD-EASO (8)
Vitamina E (PIVENS, 13)	Antiossidante	↓ steatosi/infiammazione ↔ fibrosi	Sì in non-diabetici con NASH (biopsia)	Sì in non-diabetici con NASH senza cirrosi
Pioglitazone (PIVENS, 13)	Agonista PPAR-γ ↓ insulino-resistenza	↓ steatosi/infiammazione ↔ fibrosi	Sì in NASH ± DMT2	Sì in NASH + DMT2
Metformina (19)	↓ insulino-resistenza	↓ steatosi ↔ infiammazione e fibrosi	No	No
Acido Ursodesossicolico (22-23)	↓ TNF-α Antiossidante ↓ insulino-resistenza	↓ steatosi ↔ infiammazione e fibrosi	No	No
Acidi grassi Omega-3 (25-26)	Antiossidante	↓ steatosi ↔ infiammazione e fibrosi	No (utilizzare per ipertrigliceridemia)	No (utilizzare per ipertrigliceridemia)

sempre femminile, mentre non è stata confermata correlazione con il cancro della colecisti (17).

Le linee guida AASLD suggeriscono l'utilizzo di questo farmaco per il trattamento della NASH, anche in assenza di diabete, valutando rischi e benefici in ogni singolo paziente (2). Le linee guida EASL-EASD-EASO (*European Association for the Study of the Liver - European Association for the Study of Diabetes - European Association for the Study of Obesity*) raccomandano il trattamento con pioglitazone in pazienti diabetici, ben selezionati, anche in associazione alla vitamina E (8).

Tuttavia, l'uso di pioglitazone per il trattamento della NASH è ancora poco frequente nella pratica clinica (solo il 2%) come dimostrato in uno studio retrospettivo (18). Verosimilmente l'incremento ponderale (spesso associato al trattamento) rappresenta un disincentivo al suo impiego in pazienti con NAFLD, in genere sovrappeso/obesi. L'utilizzo del pioglitazone potrebbe essere utile in particolare in pazienti normopeso con NAFLD (cosiddetti "lean NASH").

Metformina

La metformina migliora la sensibilità insulinica ed ha dimostrato efficacia nel ridurre le transaminasi e la steatosi in pazienti con DMT2, ma nessun effetto sulla fibrosi (19). Una prima meta-analisi ha confermato i benefici su steatosi e *ballooning*, nessuno su infiammazione lobulare e fibrosi (20).

Sulla base di questi dati le linee guida AASLD e EASL non raccomandano l'uso della metformina nella terapia della NASH (2, 8).

Recenti dati della letteratura dimostrano che il trattamento con metformina nei pazienti diabetici con epatopatia cronica e cirrosi è sicuro ed è in grado di aumentare la sopravvivenza (20) e ridurre il rischio di insorgenza di cirrosi ed epatocarcinoma (21).

La metformina, il farmaco maggiormente prescritto nei pazienti diabetici, non è efficace nel trattamento della NASH, ma non è da sconsigliare nella terapia del diabete in pazienti con epatite cronica e cirrosi.

Acido ursodesossicolico (UDCA)

L'UDCA è stato uno dei primi farmaci testati nel trattamento della steatoepatite non alcolica. Il primo studio pilota dimostrava significativa riduzione degli enzimi epatici e della steatosi (22).

Successivi studi randomizzati con placebo non hanno dimostrato alcuna significativa differenza su steatosi, infiammazione e fibrosi (23).

Le linee guida europee e americane non raccomandano l'utilizzo di UDCA nel trattamento della NASH (2, 8).

Uno studio di fase 2 ha recentemente dimostrato l'efficacia, rispetto al placebo, di **acido norursodesossicolico**, omologo a catena accorciata di UDCA, in pazienti con NASH (24).

Acidi grassi Omega-3

Gli acidi grassi Omega-3, comunemente utilizzati nel trattamento dell'ipertrigliceridemia, hanno dimostrato un miglioramento della steatosi e dell'infiammazione in pazienti con NASH, tramite la riduzione dello stress ossidativo. Tuttavia, due trials randomizzati non hanno confermato questi dati (25-26), e pertanto gli acidi grassi Omega-3 non sono raccomandati per il trattamento della NASH.

Analoghe considerazioni riguardano altri farmaci ipolipemizzanti, ezetimibe e statine, che non hanno dimostrato effetti positivi su NASH e fibrosi. Poiché sono privi di tossicità epatica, possono essere utilizzati per ridurre i livelli di LDL colesterolo e il rischio cardiovascolare anche in pazienti con danno epatico avanzato.

PROSPETTIVE FUTURE DI TRATTAMENTO DELLA NASH (TAB. 3)

La comprensione dei complessi meccanismi patogenetici alla base della NAFLD ha permesso l'identificazione di bersagli terapeutici potenzialmente in grado di prevenire l'evoluzione del danno epatico.

Sebbene nessuno dei farmaci sinora studiati abbia dimostrato efficacia e sicurezza superiore rispetto al placebo, nella *pipeline* per il trattamento della NASH e della cirrosi NASH-correlata vi sono numerosi farmaci, in diverse fasi di sviluppo, alcuni dei quali in terapia di combinazione.

AGENTI CON AZIONE PREVALENTEMENTE METABOLICA

Agonisti di FXR

FXR (Farnesoid X Receptor) è un recettore nucleare espresso in diversi organi (fegato, colecisti, tessuto adiposo, rene, intestino) e cellule del sistema immunitario. Una volta attivato, FXR svolge un ruolo essenziale nella sintesi e circolazione enteroepatica degli acidi biliari, modulando anche il metabolismo glicidico/lipidico epatico e la risposta infiammatoria e fibrogenica immuno-mediata, sia direttamente a livello epatico, sia attraverso l'aumentato rilascio di FGF19 (Fibroblast Growth Factor 19). Quest'ultimo è un ormone intestinale che svolge un ruolo centrale favorendo tra l'altro la sintesi e la secrezione di GLP-1.

L'**acido obeticolico (OCA)**, un acido biliare semi-sintetico, analogo dell'acido chenodossicolico, con una intensi-

tà d'azione 100 volte maggiore di quest'ultimo, è il primo agonista di FXR utilizzato in campo terapeutico. Il legame di OCA con FXR inibisce l'assorbimento intestinale degli acidi biliari e ne riduce la sintesi epatica, bloccando la conversione del colesterolo ad acidi biliari (27).

OCA è attualmente registrato per il trattamento della colangite biliare primitiva (28).

Lo studio di fase 2b (FLINT), condotto in pazienti con NASH, senza cirrosi (il 50% diabetici), ha dimostrato riduzione del NAS ≥ 2 punti senza peggioramento della fibrosi (alla biopsia di fine trattamento) nel braccio con OCA (29). Inoltre, il trattamento con OCA riduceva significativamente le transaminasi, il peso e la pressione arteriosa sistolica; durante il trattamento si evidenziava incremento di insulina basale, colesterolo totale e LDL (con riduzione di HDL). Gli effetti sul profilo lipidico potrebbero, nel lungo periodo, influenzare negativamente gli outcomes clinici CV in pazienti con NASH, già ad elevato rischio, e richiedere la correzione con statine. L'unico evento avverso segnalato era il prurito.

È stato avviato lo studio multicentrico, randomizzato, controllato con placebo, di fase 3 (REGENERATE), che ha arruolato pazienti con NASH e fibrosi ≥ 2 (o F1 ma con almeno una co-morbidità), senza cirrosi. Il trial valuterà anche gli outcomes clinici fegato-correlati e la mortalità per tutte le cause.

Nel dicembre 2019 sono stati pubblicati (30) i risultati dell'analisi a 18 mesi su 931 pazienti: nei due gruppi trattati con OCA (10 mg e 25 mg) la riduzione della fibrosi è significativamente maggiore (18% e 23%) rispetto al placebo (12%). Anche se l'endpoint della risoluzione di NASH non è stato raggiunto, i risultati sembrano dimostrare un beneficio clinico nei pazienti trattati con OCA. Il prurito (sino al 51% nel gruppo a 25 mg) e l'elevazione di LDL-C, che ha richiesto l'uso di statine, sono stati i principali eventi avversi.

Per i suddetti effetti collaterali, l'FDA non ha concesso l'approvazione accelerata del farmaco e ha richiesto dati aggiuntivi, attesi entro la fine del 2021.

Un altro trial con OCA vs placebo (REVERSE Study, NCT03439254) ha di recente completato il reclutamento di pazienti con NASH e cirrosi compensata.

Tropifexor e **Cilofexor**, agonisti selettivi non-acidi biliari di FXR di seconda generazione, sembrerebbero causare minori effetti su prurito e ipercolesterolemia rispetto

Tabella 3 ♦ Farmaci in fase di sperimentazione per il trattamento della NASH

CLASSE FARMACO	MECCANISMO D'AZIONE PRINCIPALE	FASE DI STUDIO/ GRUPPO DI CONTROLLO	POPOLAZIONE STUDIATA	PRINCIPALI EFFETTI COLLATERALI
Agonisti di FXR • OCA (29-30) • Tropifexor • Cilofexor	Metabolico FXR	Fase 3/Placebo Fase 2/Placebo Fase 2/Semaglutide-firsocostat	NASH ≥F2 NASH con cirrosi NASH F1-F3 NASH F2-F3	Prurito ↑LDL-C ↓Prurito e colesterolo
Analoghi FGF-19 • Aldafermin (31)	Metabolico FGF-19	fase 2-2b/Placebo (INTERROTTO)	NASH F2-F3 NASH con cirrosi comp.	Simili al placebo
Analoghi FGF-21 • Pegbelfermin (32)	Metabolico FGF-21	fase 2b/Placebo	NASH F3 NASH con cirrosi comp.	Diarrea, nausea
Agonisti di PPARs • MSDC-0602K (34) • Elafibranor (35-36) • Saroglitazar (38-39) • Lanifibranor (NCT03459079, NCT03008070, NCT04849728)	Metabolico PPARγ PPARα/δ PPARα/γ Pan-PPAR	fase 2b-3/Placebo fase 3/Placebo (INTERROTTO) Fase 3 (APPROVATO IN INDIA) Vitamina E Stili di vita Fase 2-3/placebo	NASH F1-F3 NASH e fibrosi NASH NASH F2-F3	Simili al placebo ↑Creatinina ↑Ponderale lieve
Agonisti di THRβ • Resmetirom (40)	Metabolico THRβ	Fase 2-3/Placebo	NASH F2-F3	Diarrea, nausea, ipotensione lieve. Effetti positivi su profilo lipidico
Aramchol™ (41-42)	Metabolico Inibitore di SCD1	Fase 3/Placebo	NASH	Ben tollerato
Cenicriviroc (43)	Anti-infiammatorio Anti-fibrotico Antagonista CCR2/CCR5	Fase 3/Placebo	NASH F2-F3	Disturbi vie respiratorie alte, nausea, astenia
Selonsertib (44)	Anti-infiammatorio Anti-fibrotico Inibitore di ASK1	Fase 3/Placebo (RISULTATI NEGATIVI)	NASH F3 NASH con cirrosi	Ben tollerato
Belapectin (47)	Inibitore di Galectin-3	Fase 2b-3/Placebo	NASH con cirrosi/ no varici esofagee	Ben tollerato

all'acido obetico, e sono in fase 2b di sperimentazione, da soli e in combinazione.

Analoghi di FGF-19 (Fibroblast Growth Factor)

FGF-19, ormone rilasciato a livello intestinale, su attivazione da parte di FXR, interviene nella sintesi degli acidi

biliari e nell'omeostasi glucidica ed energetica. L'utilizzo terapeutico di FGF-19 è stato limitato dalla sua potenziale epatocarcinogenicità.

Aldafermin (NGM282) è un analogo di FGF-19, ingegnerizzato non-tumorigenico, che migliora l'insulino-sensibilità, riduce la steatosi epatica, e sembrerebbe ridurre

anche l'infiammazione e la fibrosi epatica, tramite la soppressione della sintesi *de novo* degli acidi biliari.

È stata dimostrata una significativa riduzione della steatosi e un *trend* interessante, benché non significativo, nel miglioramento della fibrosi e risoluzione della steatoepatite, in uno studio randomizzato su pazienti con NASH. Aldafermin ha dimostrato un buon profilo di sicurezza (31). Tuttavia, nel maggio 2021 NGM ha comunicato che lo studio di fase 2b non ha raggiunto l'endpoint primario ed è stato interrotto (<https://www.biospace.com/article/ngm-s-nash-drug-misses-mark-in-phase-ii-b-alpine-trial/>).

Analoghi di FGF-21 (Fibroblast Growth Factor)

Gli analoghi di FGF-21 rappresentano una nuova strategia terapeutica per la NASH e sono in atto sviluppati da diverse companies. FGF-21 è un ormone prodotto principalmente dal fegato, presente anche in altri organi (pancreas, tessuto adiposo e muscolo scheletrico). FGF-21 interviene nella regolazione del metabolismo glicidico e lipidico, migliorando la steatosi epatica.

Gli analoghi di FGF-21 hanno dimostrato di ridurre NASH e fibrosi in vivo, tramite l'effetto anti-infiammatorio (ridotto rilascio di citochine pro-infiammatorie), e anti-fibrotico (blocco dell'attivazione e proliferazione delle cellule stellate epatiche) di questo ormone.

Pegbelfermin è un analogo ricombinante umano di FGF-21, con prolungata emivita che ne permette la somministrazione settimanale. Il farmaco ha dimostrato, in un trial multicentrico randomizzato di fase 2, in pazienti con NASH in sovrappeso, di ridurre steatosi (valutata con MRI), stiffness epatica (valutata con Fibroscan®), transaminasi e biomarcatori non invasivi (32).

Sono stati avviati due trials di fase 2b in pazienti con NASH associata a fibrosi di grado 3 (FALCON 1) o cirrosi (FALCON 2), per valutare sicurezza ed efficacia nel migliorare la NASH, la fibrosi e il rischio di progressione in cirrosi (FALCON 1), e gli outcomes clinici della cirrosi e l'incidenza di epatocarcinoma (FALCON 2).

Agonisti di Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs)

I PPARs sono una famiglia di recettori nucleari che svolgono un ruolo essenziale nel metabolismo glucidico e lipidico e modulano i processi di infiammazione e di attivazione cellulare che conducono alla fibrosi. Essi rap-

presentano pertanto un target ideale per il trattamento della NASH (33).

Sono stati identificati 3 sottogruppi di PPARs:

- PPAR α , presente principalmente in organi che consumano energia (fegato, muscolo scheletrico, cuore, rene), interviene nel metabolismo dei trigliceridi, stimola la beta-ossidazione e aumenta la sintesi di HDL; attraverso la regolazione di geni pro-infiammatori, determina la riduzione di mediatori dell'infiammazione. I ligandi di PPAR α (fibrati) sono attualmente utilizzati per il trattamento delle dislipidemie.

- PPAR γ , prevalente nel tessuto adiposo, svolge un ruolo essenziale nella redistribuzione dei depositi di grasso intra-addominale e sottocutaneo. L'agonista selettivo di PPAR γ , pioglitazone, è comunemente utilizzato nel trattamento del diabete.

Un PPAR γ di seconda generazione (**MSDC-0602K**) che agisce a livello del carrier piruvato mitocondriale, con ridotto legame PPAR γ , avrebbe minori effetti collaterali rispetto al pioglitazone (34). Gli effetti positivi dimostrati sul profilo glicemico e sui biomarcatori di danno epatico in pazienti con NASH e fibrosi F1-F3, hanno indotto ad avviare uno studio di fase 3 (EMMINENCE, NCT03970031).

- PPAR β/δ , con distribuzione ubiquitaria, interviene nel catabolismo del colesterolo, nel metabolismo glucidico e degli acidi grassi.

Elafibranor, agonista di PPAR α/δ , che in uno studio di fase 2b (GOLDEN-505) aveva dimostrato, effetti positivi sulla NASH, senza un peggioramento della fibrosi (35), non ha confermato analoghi risultati in fase 3 (36), e pertanto lo studio è stato interrotto nel luglio 2020. Elafibranor ha confermato comunque sicurezza e tollerabilità.

Saroglitazar, agonista di PPAR α/γ , con effetto prevalente sul recettore α , è in grado di ridurre la steatosi, l'infiammazione e la fibrosi in studi condotti su modelli animali di NASH (37).

In un piccolo studio pilota di fase 2 randomizzato, controllato, in pazienti con NASH, Saroglitazar non ha mostrato riduzione significativa del NAS (probabilmente per l'esiguità del campione), nonostante la tendenza al miglioramento dei parametri istologici (38).

Uno studio successivo di fase 2, condotto con Saroglitazar in pazienti sovrappeso/obesi con NASH e ALT ≥ 50 U/L, ha raggiunto l'endpoint della normalizzazione delle transaminasi, oltre a ridurre il contenuto epatico di grasso (valutato con MRI-PDFF), migliorare la sensibilità insu-

linica e il profilo lipidico, pur determinando un lieve incremento ponderale rispetto al placebo (39).

Saroglitazar ha un buon profilo di sicurezza e tollerabilità.

È in corso uno studio di fase 3 in combinazione con vitamina E, a confronto con la modifica degli stili di vita, in pazienti con NAFLD/NASH (NCT04193982).

Saroglitazar è stato recentemente approvato in India per il trattamento della NASH.

Lanifibranor, agonista pan-PPAR (α , β / δ e γ), agendo sui tre differenti recettori, ha dimostrato in modelli animali di migliorare la steatosi, l'infiammazione e la fibrosi.

Sono in corso due studi di fase 2 (NCT03459079, NCT03008070) e uno di fase 3 (NCT04849728) che dovranno dimostrare efficacia e sicurezza di Lanifibranor in pazienti con NASH senza cirrosi.

Agonisti del recettore beta dell'ormone tiroideo (THR β)

Il recettore beta dell'ormone tiroideo è notevolmente espresso negli epatociti (a differenza del recettore α , espresso principalmente a livello osseo e cardiaco), regola il metabolismo lipidico, migliora la sensibilità insulinica e riduce l'apoptosi epatocitaria. Agonisti selettivi del recettore nucleare beta, con profilo di attività sul fegato e privi di effetti su altri organi, hanno dimostrato un promettente ruolo terapeutico nella NASH. Segni clinici o subclinici di ipotiroidismo sono spesso presenti in pazienti con NAFLD, e pazienti con ipotiroidismo mostrano alterazioni epatiche simili alla NAFLD.

Resmetirom (MGL-3196), agonista del recettore nucleare beta dell'ormone tiroideo, è 28 volte più selettivo dell'ormone tiroideo triiodotironina, con attività quasi esclusiva sul fegato. In uno studio di fase 2 randomizzato, controllato, in doppio cieco, recentemente pubblicato, sono stati valutati efficacia e sicurezza di Resmetirom (80 mg/die per os), in pazienti con NASH e fibrosi F1-F3 dimostrate alla biopsia (40). Il farmaco ha ridotto significativamente la steatosi, valutata con MRI-PDFF, con effetto anche sui marcatori sierologici e istologici di infiammazione, ma non sulla fibrosi. Resmetirom è ben tollerato e gli effetti collaterali più frequenti rispetto al placebo sono stati la diarrea e la nausea di lieve intensità. Un dato interessante emerso da questo trial è la riduzione significativa nel gruppo trattato con Resmetirom di LDL-C, APO-B, lipoprotein(a) e trigliceridi. Questi effetti su lipidi altamente aterogenetici potrebbero ridurre il rischio cardio-

vascolare, rendendo questa molecola potenzialmente più adatta a pazienti ad alto rischio CV.

Sulla base di questi dati promettenti è stato avviato un trial di fase 3 con Resmetirom nella NASH con fibrosi F2-F3 (NCT03900429).

Inibitori di Stearoyl-CoA Desaturase-1 (SCD1)

Aramchol è un inibitore di SCD1 che promuove la formazione di acidi grassi, previene la *de novo* lipogenesi e riduce l'insulinoresistenza.

In uno studio di fase 2 Aramchol si è dimostrato efficace nel ridurre il contenuto epatico di grasso (valutato con MRI), in pazienti con NAFLD dimostrata alla biopsia (41). Un successivo trial di fase 2b (ARREST) ha confermato l'efficacia del farmaco nel ridurre la steatosi epatica in pazienti affetti da NASH, sovrappeso/obesi con prediabete/DMT2. Nei pazienti trattati si notava anche riduzione delle transaminasi e dell'emoglobina glicata. Il farmaco era ben tollerato, e addirittura i principali effetti collaterali venivano segnalati nel gruppo placebo (42).

È in corso di arruolamento il trial di fase 3 (ARMOR, NCT04104321).

AGENTI ANTI-INFIAMMATORI/ANTI-FIBROTICI

Inibitori dei recettori delle chemochine 2 e 5 (CCR2/CCR5)

Cenicriviroc è un antagonista dei recettori delle chemochine (CCR2 e CCR5) con dimostrata azione anti-infiammatoria e anti-fibrotica. In uno studio di fase 2b (CENTAUR), in pazienti con NASH e fibrosi di stadio 1-3, diabetici o con sindrome metabolica, Cenicriviroc non ha raggiunto l'endpoint primario (riduzione del NAS e risoluzione della NASH), nonostante un significativo miglioramento della fibrosi rispetto al placebo (20% vs 10%). Questo risultato si manteneva nei 2 anni successivi nei pazienti in cui la fibrosi si era ridotta di almeno 1 stadio (60% vs 30%), in particolare nei soggetti con fibrosi avanzata. I risultati ottenuti anche nel gruppo placebo potrebbero essere giustificati dalla modifica degli stili di vita e un miglior controllo del diabete. Gli effetti collaterali più frequenti di Cenicriviroc comprendono disturbi delle alte vie respiratorie e nausea (43).

I promettenti risultati dimostrati sulla fibrosi hanno dato l'avvio ad un trial di fase 3 (AURORA), in pazienti con NASH e fibrosi avanzata (F2-F3), allo scopo di valutare la risoluzione della NASH, la riduzione della fibrosi, degli

eventi clinici fegato-correlati e della mortalità per tutte le cause (NCT03028740).

Inibitori dell'apoptosi

Selonsertib, inibitore di ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1), agisce sui meccanismi di necrosi e apoptosi cellulare, con effetti anti-infiammatori e anti-fibrotici. I risultati di due studi di fase 3, recentemente pubblicati, non hanno purtroppo confermato le attese. Nel trial STELLAR-3 Selonsertib (ai dosaggi di 18 mg e 6 mg, per 48 settimane) è stato messo a confronto con placebo, in 1700 pazienti con NASH e fibrosi avanzata. L'endpoint primario (regressione di almeno uno stadio di fibrosi senza peggioramento della NASH) non è stato raggiunto, addirittura la riduzione della fibrosi è stata lievemente maggiore nel gruppo placebo.

Nel trial STELLAR-4, condotto su pazienti con NASH e cirrosi (F4), la riduzione della fibrosi era sovrapponibile al placebo. Selonsertib è ben tollerato (44).

Nonostante i risultati negativi dei due trials, ASK1 rimane un potenziale target terapeutico, e la sperimentazione di Selonsertib continua in combinazione con altri farmaci.

Emricasan, inibitore di caspasi, riduce l'apoptosi epatocitaria, dimostrando azione anti-fibrotica, sul modello murino di NASH. Il farmaco non è stato in grado di ridurre significativamente la fibrosi e gli outcomes clinici in due trials randomizzati in pazienti con NASH e fibrosi avanzata (45) e con cirrosi (46).

Inibitori di Galectin-3

Galectin-3 è una proteina coinvolta nei processi di differenziazione intracellulare, infiammazione e fibrosi. Elevati livelli di Galectin-3 sono stati dimostrati in modelli animali di steatoepatite.

In uno studio di fase 2b, **Belaspectin (GR-MD-02)**, inibitore selettivo di Galectin-3, non ha dimostrato efficacia nel ridurre la pressione portale in pazienti affetti da NASH con cirrosi e ipertensione portale, anche se, in un sottogruppo di pazienti senza varici esofagee al baseline si riduceva il rischio di sviluppo di varici (47).

È in corso di arruolamento uno studio di fase 2b/3 (NAVIGATE, NCT04365868), in pazienti con cirrosi e ipertensione portale senza varici esofagee, con l'obiettivo di valutare gli outcomes clinici.

Ruolo del microbiota intestinale e potenziali target terapeutici

Studi recenti hanno dimostrato notevoli differenze nella composizione del microbiota intestinale in pazienti con NAFLD rispetto ad individui sani. La disbiosi intestinale svolge un importante ruolo nella patogenesi della NAFLD ed è correlata con la progressione del danno epatico.

Variazioni della composizione del microbiota aumentano la permeabilità della mucosa intestinale e alterano la barriera vascolare dell'intestino (48). I prodotti del microbiota (lipopolisaccaridi, DNA batterici, peptidoglicani) possono così attraversare la mucosa intestinale, passare nella circolazione portale e raggiungere direttamente il fegato. È evidente una stretta correlazione tra disbiosi, infiammazione e fibrosi epatica, ed è riconosciuto il ruolo dell'asse intestino-fegato nella patogenesi della NASH. Nel paziente con NAFLD è stata dimostrata una ridotta diversità microbica, anche se non si conosce la composizione specifica del microbioma in questi pazienti. In corso di NASH avanzata è stata dimostrata elevata presenza di *Bacteroides*, *Ruminococcus* e di batteri che producono etanolo (*Escherichia* e *Klebsiella*, 49).

Modifiche nella composizione della dieta, probiotici, prebiotici, antibiotici (quali la Rifaximina) e il trapianto fecale sono stati valutati in pazienti con NASH, in studi di piccole dimensioni e senza controllo istologico.

In una recente meta-analisi si dimostra che probiotici e prebiotici modificano significativamente alcuni marcatori indiretti della NASH, ma non influenzano gli outcomes clinici (50).

Terapie di combinazione

La difficoltà di trovare una terapia efficace e sicura per il trattamento della NASH è giustificata dalla complessità dei meccanismi patogenetici che la determinano e dalla molteplicità degli organi coinvolti (fegato, tessuto adiposo, pancreas endocrino, intestino, apparato cardiovascolare). Inoltre, i pazienti con NASH sono estremamente eterogenei per fattori genetici, peso corporeo, profilo lipidico, presenza o meno di DMT2, tutti fattori che possono influenzare le manifestazioni cliniche nel singolo paziente. Pertanto, è verosimile che un farmaco potrebbe non essere adatto a tutti i pazienti.

Il farmaco ideale dovrebbe infatti dimostrare benefici sulle manifestazioni epatiche della NASH (steatosi, infiammazione e fibrosi), migliorando compenso glicemi-

co, profilo lipidico, peso corporeo e rischio CV, o almeno avere effetto neutro su di essi (Tab. 4).

A rendere ancora più complicata questa ricerca sono i risultati ottenuti nel gruppo placebo di quasi tutti i trials condotti, intorno al 20%, correlati all'effetto della modifica degli stili di vita dei pazienti arruolati (51).

Di fronte a queste difficoltà è ragionevole pensare che la combinazione di due o più farmaci, con diverso target d'azione, potrebbe aumentare l'efficacia complessiva del trattamento, ridurre il dosaggio di ciascuna molecola e quindi limitarne la tossicità e gli effetti collaterali.

La scelta dei farmaci da associare dipende dalla popolazione target.

Ad esempio, in pazienti con DMT2 è naturale associare un farmaco antidiabetico ad uno con azione anti-infiammatoria e anti-fibrotica che migliori la NASH. Il trial PIVENS è stato il primo a dimostrare la superiorità della combinazione di pioglitazone e vitamina E rispetto al farmaco anti-diabetico da solo e al placebo (13).

Diversi agonisti di GLP-1 e inibitori di SGLT2 sono in fase di sperimentazione in combinazione con agonisti di FXR (Cilofexor, Tropifexor), anti-infiammatori e anti-fibrotici (Selonsertib, Cenicriviroc).

Il trial ATLAS (NCT03449446) è un esempio di combinazione di tre target farmacologici: Cilofexor (agonista di FXR di seconda generazione), Selonsertib (inibitore dell'apoptosi), Firsocostat (inibitore di acetyl-CoA carboxylase, con effetto sulla de novo lipogenesi).

È stato recentemente completato l'arruolamento del trial di fase 2, con Semaglutide in combinazione con Selonsertib e Firsocostat (NCT03987074).

Un esempio di combinazione utile alla riduzione degli effetti indesiderati è il trial di fase 2 CONTROL (NCT02633956) che valuta l'efficacia e il profilo di sicurezza di OCA (Agonista di FXR) con Atorvastatina, allo scopo di ridurre l'effetto negativo del primo su LDL colesterolo. La maggior parte di queste combinazioni sono ancora in fase 2 di sperimentazione (ClinicalTrials.gov).

Tabella 4 ♦ Le caratteristiche del farmaco ideale per la NASH

Target epatico
risoluzione NASH
regressione fibrosi
riduzione <i>outcomes</i> clinici
riduzione necessità di trapianto
riduzione mortalità
Target extra-epatico
miglioramento del compenso glicemico
effetto positivo/neutro sul profilo lipidico
effetto positivo/neutro sul peso corporeo
effetto positivo/neutro su funzione cardiovascolare e renale
Sicurezza e tollerabilità
Costo economico sostenibile

CONCLUSIONI

La NAFLD/NASH è la principale causa emergente di danno epatico. A fronte dei progressi nella comprensione dei meccanismi patogenetici, ad oggi la perdita di peso è l'unica terapia efficace, anche se è prevedibile che nei prossimi 3-4 anni numerosi farmaci saranno disponibili per il trattamento della NASH e delle sue più gravi complicanze.

Probabilmente sarà necessaria la combinazione di 2 o 3 farmaci con diverso bersaglio d'azione (metabolico, anti-infiammatorio, anti-fibrotico).

Le strategie terapeutiche farmacologiche dovranno essere "personalizzate", tenendo in considerazione le caratteristiche di ogni singolo paziente.

Pertanto è necessario individuare i pazienti a rischio nel setting della medicina generale e degli specialisti di diabete ed obesità tramite test sierologici e strumentali non invasivi.

In considerazione della complessità patogenetica e della eterogeneità clinica, solo un approccio multidisciplinare (epatologo, diabetologo, endocrinologo, chirurgo bariatrico, psicologo, nutrizionista, cardiologo), che metta il paziente al centro delle cure, permetterà di ridurre il "peso" sociale ed economico della NAFLD e delle sue conseguenze.

BIBLIOGRAFIA

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease -meta-analytic assessment of prevalence, incidence and outcomes. *Hepatology* 64: 73-84, 2016.
2. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Disease. *Hepatology* 67(1): 328-357, 2018.
3. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. *J Hepatol* 73(1): 202-209, 2020.
4. Simon TG, Roelstraete B, Khalili H, et al. Mortality in biopsy-confirmed nonalcoholic fatty liver disease: results from a nationwide cohort. *Gut* doi:10.1136, 2020.
5. Simon TG, Roelstraete B, Sharma R, et al. Cancer risk in patients with biopsy-confirmed non-alcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Hepatology* doi:10.1002, 2021.
6. Cholanteril G, Wong RJ, Hu M, et al. Liver transplantation for non-alcoholic steatohepatitis in the US: temporal trends and outcomes. *Dig Dis Sci* 62: 2915-2922, 2017.
7. Lazarus JV, Palayew A, Carrieri P, et al. European "NAFLD Preparedness Index" – Is Europe ready to meet the challenge of fatty liver disease?. *JHEP Rep* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100234>.
8. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 64(6): 1388-1402, 2016.
9. Kleiner DE, Brunt EM, Natta MV, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 41(6): 1313-21, 2005.
10. Brunt EM, Kleiner DE, Carpenter DH, et al. NAFLD: reporting histological findings in clinical practice. *Hepatology* 73(5): 2028-2038, 2021.
11. Mozes FE, Lee JA, Selvaraj EA, Jayaswal ANA, Trauner M, Boursier J, et al. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. *Gut* 0:1-14. doi:10.1136, 2021.
12. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 149(2): 367-378, 2015.
13. Sanjal AJ, Chalasani N, Kowdely KV, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 6, 362(18): 1675-1685, 2010.
14. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA* 305(16): 1659-1668, 2011.
15. Abner EL, Schmitt FA, Mendiondo MS, et al. Vitamin E and all-cause of mortality: a meta-analysis. *Curr Aging Sci* 4(2): 158-70, 2011.
16. Musso G, Cassader M, Paschetta E, Gambino R. Thiazolidinediones and advanced liver fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis: a meta-analysis. *JAMA Intern Med* 177: 633-640, 2017.
17. Yau H, Rivera K, Lomonaco R, Cusi K. The future of thiazolidinedione therapy in the management of type 2 diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 13(3): 329-341, 2013.
18. Chan WK, Treeprasertsuk S, Imajo K, et al. Clinical features and treatment of nonalcoholic fatty liver disease across the Asia Pacific region-the GO ASIA initiative. *Aliment Pharmacol Ther* 47(6): 816-825, 2018.
19. Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 100(5): 1082-1090, 2005.
20. Shulte L, Scheiner B, Voigtlander T, et al. Treatment with metformin is associated with a prolonged survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 39(4): 714-726, 2019.
21. Singh S, Singh PP, Singh AG, et al. Anti-diabetics medications and risk of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*, 108(6), 881-891, 2013.
22. Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcoholic-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 23(6): 1464-1467, 1996.
23. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of non-alcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology* 2004, 39(3), 770-778, 2004.
24. Traussnigg S, Schattenberg J, Demir M, et al. Norursodeoxycholic acid versus placebo in the treatment of

- non-alcoholic fatty liver disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 2 dose-finding trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 4(10): 781-793, 2019.
25. Sanjal AJ, Abdelmalek MF, Suzuki A, Cummings OW, Chojkier M, EPE-A Study Group. No significant effect of ethyl-eicosapentaenoic acid on histologic features of non-alcoholic steatohepatitis in a phase 2 trial. *Gastroenterology* 147: 377-384, 2014.
 26. Argo CK, Patrie JT, Lackner JC, et al. Effects of n-3 fish oil on metabolic and histological parameters in NASH: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Hepatol* 62: 190-197, 2015.
 27. Pellicciari R, Costantino G, Camaioni E, et al. Bile acid derivative as ligands of the farnesoid X receptor. Synthesis, evaluation, and structure-activity relationship of a series of body and side chain modified analogues of chenodeoxycholic acid. *J Med Chem* 47(18): 4559-4569, 2004.
 28. Nevens F, Andreone P, Mazzella G, et al. A placebo-controlled trial of obeticholic acid in primary biliary cholangitis. *N Engl J Med* 375(7): 631-643, 2016.
 29. Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanjal AJ, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 385(9972): 956-965, 2015.
 30. Younossi ZM, Ratziu V, Loomba R, et al. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 394 (10215) 2184-2196, 2019.
 31. Harrison SA, Neff C, Guy GD, et al. Efficacy and safety of Aldafermin, an engineered FGF19 analog, in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 160: 219-231, 2021.
 32. Sanyal AJ, Charles ED, Neuschwander-Tetri BA, et al. Pegbelfermin (BMS-986036), a PEGylated fibroblast growth factor 21 analogue, in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2a trial. *Lancet* 392: 2705-2717, 2019.
 33. Foucherat A, Montagner A, Loiseau N, et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and their novel ligands as candidates for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Cells* 9(7): 1638, 2020.
 34. Colca JR, McDonald WG, Cavey GS, et al. Identification of a mitochondrial target of thiazolidinedione insulin sensitizers (mTOT): relationship to newly identified mitochondrial pyruvate carrier proteins. *PLoS One* 8; e61551, 2013.
 35. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, et al. Elafibranor, an agonist of the peroxisome proliferator-activated receptor- α and $-\delta$, induces resolution of nonalcoholic steatohepatitis without fibrosis worsening. *Gastroenterology* 150, (5): 1147-1159, 2016.
 36. Francque S, Szabo G, Abdelmalek MF, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: the role of peroxisome proliferator-activated receptors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 18(1), 24-39, 2021.
 37. Jain MR, Giri SR, Bhoi B, et al. Dual PPAR α /g agonist saroglitazar improves liver histopathology and biochemistry in experimental NASH models. *Liver Int* 38(6), 1084-1094, 2018.
 38. Siddiqui MS, Idowu MO, Parmar D, et al. A phase 2 double blinded, randomized controlled trial of saroglitazar in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* S1542-3565(20)31509-3, 2020.
 39. Gawrieh S, Noureddin M, Loo N, et al. Saroglitazar, a PPAR- α / γ agonist, for treatment of nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled double-blind phase 2 trial. *Hepatology* doi: 10.1002/hep.31843, 2021.
 40. Harrison SA, Bashir MR, Guy CD, et al. Resmetirom (MGL-3196) for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet* 394(10213), 2012-24.2019, 2019.
 41. Safadi R, Konikoff FM, Mahamid M, et al. The fatty acid-bile acid conjugate Aramchol reduces liver fat content in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 12(12): 2085-2091, 2014.
 42. Ratziu V, de Guevara L, Safadi R, et al. One-year results of the global phase 2b randomized placebo controlled ARREST trial of Aramchol, a stearyl CoA desaturase modulator in NASH patients. *Hepatology* 68, LB-5, 2018.
 43. Ratziu V, Sanjal A, Harrison SA, et al. Cenicriviroc treatment for adults with nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis: final analysis of the phase 2b CENTAUR study. *Hepatology* 72(3): 892-905, 2020.
 44. Harrison SA, Wong VW, Okanoue T, et al. Selonsertib for patients with bridging fibrosis or compensated cir-

- rhosis due to NASH: Results from randomized phase III STELLAR trials. *J Hepatol* 73(1): 26-39, 2020.
45. Harrison SA, Goodman Z, Jabbar A, et al. A randomized, placebo-controlled trial of emricasan in patients with NASH and F1-F3 fibrosis. *J Hepatol* 72: 816-827, 2020.
46. Garcia-Tsao G, Bosch J, Kayali Z, et al. Randomized placebo-controlled trial of emricasan for non-alcoholic steatohepatitis-related cirrhosis with severe portal hypertension. *J Hepatol*, 72(5): 885-895, 2020.
47. Chalasani N, Abdelmalek MF, Garcia-tsao G, et al. Effects of Belapectin, an inhibitor of Galectin-3, in patients with non-alcoholic steatohepatitis with cirrhosis and portal hypertension. *Gastroenterology* 158(5): 1334-1345, 2020.
48. Mouries J, Brescia P, Silvestri A, et al. Microbiota-driven gut vascular barrier disruption is a prerequisite for non-alcoholic steatohepatitis development. *J Hepatol* 71(6): 1216-1228, 2019.
49. Zhu L, Baker SS, Gill C. Characterization of gut microbioma in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology* 57: 601-609, 2013.
50. Sharpton SR, Maraj B, Harding-Theobald E, et al. Gut microbiome-targeted therapies in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Am J Clin Nutr* 110(1): 139-149, 2019.
51. Han MAT, Altayar O, Hamdeh S, et al. Rates of and factors associated with placebo response in trials of pharmacotherapies for nonalcoholic steatohepatitis: Systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 17(4): 616-629, 2019.