



Kronik B Hepatitlerde Steatoz ve Steatohepatitin Stellat Hücrelere Etkisi: Hepatit B Virüsü Negatif Steatohepatit Olgularla Karşılaştırılması

Effect of Steatosis and Steatohepatitis on Hepatic Stellate Cells in Chronic Hepatitis B: Comparison with Hepatitis B Virus-Negative Steatohepatitis Cases

Selin TOKAT¹ , Mehmet Fatih TEKİN² , Çiğdem ATAİZİ ÇELİKEL²

¹ Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

² Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, Kronik Hepatit B olgularında steatoz/steatohepatit varlığının karaciğerde miyofibroblastik farklılaşma gösteren stellat hücre yoğunluğu ve dağılımı üzerine etkisinin araştırılması ve fibrojeniz sürecinde CD56 pozitif NK hücrelerin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: En az 12 portal alanı olan karaciğer biyopsilerinde, 22 Kronik Hepatit B steatoz (-), 20 Kronik Hepatit B steatoz (+) ve 22 Kronik Hepatit B steatohepatit (+) olgudan oluşan üç grup ve Kronik Hepatit B (-) steatohepatit (+) 22 olgu seçildi. Tüm biyopsilere trikrom ve retikülin özel boyaları ile düz kas aktini ve CD56 immünohistokimya boyaları uygulandı. Düz kas aktini ve CD56 boyanma dağılımı ve yoğunluğunun, gruplar arasındaki değerleri, yağlanma derecesi, balonlaşma derecesi ve fibrozis skoru ile ilişkisi Fischer exact test, düz kas aktini ile CD56'nın boyanma dağılımı ve yoğunluğu açısından karşılaştırılması Spearman korelasyon testi ile analiz edildi.

Bulgular: Kronik Hepatit B steatoz(-) grubunda düz kas aktini ile boyanma saptanmadı; dağılım ve yoğunluk açısından bu grup ile diğer gruplar arasında anlamlı fark belirlendi; ancak diğer grupların kendi aralarında anlamlı fark yoktu. Kronik Hepatit B steatoz (-) grubunda CD56 ile boyanma yalnız 10 olguda ve zon-1'de sınırlı saptandı; dağılım ve yoğunluk açısından bu grup ile Kronik Hepatit B steatoz (+) grup arasında fark saptanmamasına karşın diğer gruplarla arasında anlamlı fark belirlendi. Diğer grupların birbirleri arasında CD56 boyanma yoğunluğu açısından fark yoktu, ancak zonal dağılım farkı belirgindi ($p<0,01$). Yağlanma yoğunluğu ve balonlaşma derecesi CD56 yoğunluk ve dağılımı ile, fibrozis skoru CD56 dağılımı ilişkili bulundu. Düz kas aktini ve CD56 dağılımları ve yoğunlukları arasında korelasyon izlendi ($p<0,01$).

Sonuç: Çalışmamız, özellikle steatohepatit izlenen Kronik Hepatit B olgularında aktif fibrojeniz sürecinin devam ettiğini ve bunun CD56 pozitif NK hücreleri ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Hepatosteatoz, Kronik Hepatit B, NK hücre; Steatohepatit, Stellat hücre

ABSTRACT

Aim: This study aimed to investigate the impact of steatosis and steatohepatitis on the density and distribution of stellate cells showing myofibroblastic differentiation in liver tissue from patients with Chronic hepatitis B and to determine the role of CD56-positive NK cells in the fibrogenesis process.

Material and Methods: Liver biopsy specimens from 86 patients with Chronic hepatitis B (22 without steatosis, 20 with steatosis, and 22 with steatohepatitis) were evaluated using trichrome and reticulin stains, as well as immunohistochemistry for smooth muscle actin and CD56. The density and distribution of SMA+ stellate cells and CD56+ NK cells were assessed and correlated with histological features, including steatosis, ballooning degeneration, and fibrosis score.

Results: In the Chronic hepatitis B group without steatosis, SMA immunostaining was absent, whereas CD56 expression was restricted to zone 1 in a subset of cases. Significant differences in CD56 distribution and staining intensity were observed between the non-steatotic group and the other groups ($p < 0.01$). CD56 expression correlated significantly with steatosis severity and ballooning degeneration. Furthermore, the presence of CD56-positive NK cells was associated with higher fibrosis scores. A positive correlation between smooth muscle actin and CD56 expression was identified ($p < 0.01$), suggesting a potential interaction between stellate cell activation and NK cell involvement in fibrogenesis.

Conclusion : These findings suggest that active fibrogenesis persists in chronic hepatitis B, particularly in cases with steatohepatitis, and may be associated with CD56-positive NK cell activity.

Keywords : Chronic Hepatitis B, Hepatic steatosis, Steatohepatitis, Hepatic stellate cell, Natural killer cell

GİRİŞ

Kronik Hepatit B (KH-B) tüm dünyada yaygındır, ancak görülme sıklığı Asya ve Afrika ülkelerinde %70'e ulaşmaktadır (1). KH-B ve komplikasyonları nedeniyle her yıl 700.000 kişinin öldüğü tahmin edilmektedir.

Yağlı karaciğer hastalığı (YKH), basit steatoz, steatohepatit (SH), fibrozis ve sirozu içeren geniş karaciğer hasar spektrumunu kapsar (2). Ülkemizde YKH görülme sıklığının %48,3 olduğu ve vücut kitle indeksi ≥ 25 kg/m² olan bireylerde bu oranın %63'e kadar ulaştığı rapor edilmiştir (3). Yağlı karaciğer hastalığının iki ana histolojik paterni vardır; hepatosteatoz ve steatohepatit (4). Hepatosteatoz, hepatosit sitoplazmalarında aşırı lipid birikimi olarak tanımlanır (%5'den fazla) ve siroz gelişimi nedenlerinden biri olduğu kabul edilir (5). Yapılan çalışmalarda YKH'nın SH'ye ve fibroze ilerlemesinde steatoz derecesinin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (6).

Steatohepatit dünya genelinde görülme sıklığı artmakta olan, patogenezinde kişinin yaşam şekli ve genetik faktörlerinin önemli rol oynadığı komplike bir metabolik durum olan YKH'nın klinik açıdan en önemli histolojik paternidir (7). Steatohepatitin en belirgin histopatolojik özellikleri hepatosellüler steatoz, balonlaşma dejenerasyonu, mikst tipte akut ve/veya kronik lobüler inflamasyon ve öncelikle zon 3 olmak üzere perisinüzoidal fibrozistir (8).

Dünya çapında yapılan sınırlı sayıda çalışmada Hepatit B virüsü ile enfekte hastalardaki hepatik steatoz prevalansı %25,6 olarak bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise KH-B ve YKH'nın birlikte görüldüğü olguların artış gösterdiği ve HBV ile enfekte hastaların %27-51'ine YKH'nın eşlik ettiği belirtilmektedir (9). HBV enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer yağlanma patogenezinin moleküler düzeyde açıklayan çalışmalar bulunmasına karşın, KH-B ve YKH arasındaki ilişki zayıf ve tartışmalı olmaya devam etmektedir (10).

Disse aralığında yerleşim gösteren stellat hücrelerin, viral hepatit ve steatohepatit dahil çeşitli kronik karaciğer hasarlarında aktifleşerek miyofibroblastlara dönüştüğü ve tip I/III kollajen sentezleyerek karaciğer fibrozisine yol açtığı bilinmektedir (11). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, doğuştan gelen bağışıklığın temel bir bileşeni olan doğal öldürücü (NK) hücrelerin pro-fibrotik ve anti-fibrotik işlevler de dahil olmak üzere karaciğer fibrozisinin gelişimi ve ilerlemesinde ikili rol oynadıkları ve bu rollerini stellat hücreler üzerinden gerçekleştirdikleri gösterilmiştir (12).

Bu doğrultuda çalışmamızda, steatoz ve steatohepatit varlığının karaciğerde KH-B olgularında miyofibroblastik farklılaşma gösteren stellat hücre yoğunluğu ve dağılımı üzerine etkisinin araştırılması ve fibrojeniz sürecinde CD56 pozitif NK hücrelerin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Kesitsel türdeki çalışmada, 2011-2020 yılları arasında Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda KH-B tanısı alan karaciğer biyopsi raporları tarandı. KH-B tanılı raporlar, eşlik eden steatoz ve/veya steatohepatit varlığı veya yokluğuna yönelik olarak değerlendirildi.

KH-B olguları arasında, steatozu olan 20 olgu (Grup-1), steatozu olmayan 22 olgu (Grup-2) ve steatohepatiti olan 22 olgu (Grup-3) seçilerek üç grup oluşturuldu. Olgu seçiminde gruplar arasında yaş, cinsiyet ve ISHAK fibrozis skor dağılımının benzer olmasına dikkat edildi. En az 12 portal alan içeren ve parafin bloklarında 1 cm üzeri uzunlukta dokuları kalan olgular çalışmaya dahil edildi. Olgulara ait lamalar arşivden çıkarılarak tekrar değerlendirildi ve çalışma kapsamına uygun olduğu belirlendikten sonra gruplara dahil edildi. Ayrıca, aynı döneme ait arşiv raporları/lamalar taranarak ve yaş, cinsiyet ile fibrozis skor dağılımı gözetilerek HBV-negatif 22 steatohepatit olgusu seçildi (Grup-4).

Çalışma kapsamına alınan tüm biyopsilerin bloklarından hazırlanan kesitlere Hematoksilen-Eosin, Masson trikrom ve retikülün konvansiyonel histokimya boyaları uygulandı. Stellat hücrelere yönelik SMA ve NK hücrelerine yönelik CD56 immünohistokimya boyaları uygulandı. Alfa-düz kas aktin (SMA) ve nöral hücre adezyon molekülü (NCAM/CD56) immünohistokimyası için fare monoklonal SMA (Klon sm-1, RTU, Leica, Newcastle Upon Tyne, United Kingdom) ve tavşan monoklonal CD56 (NCAM) (Klon MRQ-42, RTU, Roche-Ventana, Tucson, Arizona, USA) antikorları kullanıldı.

Fibrozis, Grup-1 ve Grup-2 olgularda Modifiye ISHAK Sistemi (13), Grup-3 ve Grup-4 olgularda Brunt'ın önerdiği skorlama sistemi (14) ile Modifiye ISHAK sistemi birlikte göz önüne alınarak değerlendirildi. Yağlanma derecesi, balonlaşma dejenerasyonu ve lobüler inflamasyon, Brunt'ın önerdiği kriterler doğrultusunda belirlendi.

SMA yoğunluğu; 0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=belirgin şeklinde semikantitatif olarak skorlandı. CD56 yoğunluğu; 0=negatif, 1=hafif (<5/BBA), 2=orta (5-10/BBA), 3=belirgin derecede (>10/BBA) şeklinde değerlendirildi. SMA ve CD56 dağılımında zon 1 ve/veya periseptal, zon 3 -/+ zon 2, zon 1 + zon 3, azonal + panasiner dağılım göz önüne alındı.

İstatistiksel analizler, Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS version 26.0, NewYork, United States) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı analizler sürekli veriler için normal dağılım göstermediğinde ortanca şeklinde, kategorik veriler için ise sayısal ve yüzde değerler ile sunuldu. SMA ve CD56 boyanma dağılımı ve yoğunluğunun, gruplar arasındaki değerleri, yağlanma derecesi, balonlaşma derecesi ve fibrozis skoru ile ilişkisi gibi kategorik verilerin karşılaştırılmasında Fischer's Exact test, SMA ile CD56'nın boyanma dağılımı ve yoğunluk açısından karşılaştırılması gibi sürekli veriler ise Spearman korelasyon testi ile analiz edildi. İstatistiksel analizlerde anlamlılık en az $p<0,05$ düzeyinde kabul edildi.

Çalışmamız Helsinki Deklarasyonu 2008 prensiplerine uygun olarak yapıldı. Çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 01-02-2019 tarihli ve 09.2019.262 no'lu etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı.

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 01.03.2019, Protokol Kodu: 09.2019.262).

BULGULAR

1. Demografik Veriler: 2011-2020 yılları arasında Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan, %27'si (n=23) kadın, %73'ü (n=63) erkek, toplam 86 olgu çalışma kapsamına alındı. Olguların tanı anındaki yaş ortalaması 47.3'tü (yaş dağılımı: 10-79). Tanılarına göre toplam 86 olgu, **Grup-1:** steatoz izlenen KH-B [KH-B, steatoz (+)] 20 olgu, **Grup-2:** steatoz izlenmeyen KH-B [KH-B steatoz (-)] 22 olgu, **Grup-3:** steatohepatitle birlikte görülen KH-B [KH-B, steatohepatit (+)] 22 olgu ve **Grup-4:** HBV negatif steatohepatit [HBV (-) steatohepatit (+)] 22 olgu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. KH-B steatoz (+) grubundaki olguların %30'u (n=6) kadın, %70'i (n=14) erkek, yaş dağılımları 19-68 (medyan değeri: 46); KH-B steatoz (-) grubundaki olguların %27'si (n=6) kadın, %73'ü (n=16) erkek, yaş dağılımları 19-68 (medyan değeri: 46.5); KH-B steatohepatit (+) grubundaki olguların %23'ü (n=5) kadın, %77'si (n=17) erkek, yaş dağılımları 27-79 (medyan değeri: 52.5); KH-B (-) steatohepatit (+) grubundaki olguların %27'si (n=6) kadın, %73'ü (n=14) erkek, yaş dağılımları 10-66 (medyan değeri: 49.5) olarak saptandı.

2. Histomorfolojik Bulgular: İncelenen olguların yağlanma derecesi ve paterni, balonlaşma dejenerasyonu, odaksal nekroz, ISHAK fibrozis evresi, fibröz bant dağılım ve yoğunluğu, SMA zonal dağılımı ve yoğunluğu, CD56 (NCAM) zonal dağılım ve yoğunluğu parametrelerine göre dağılımları Tablo I'de yansıtılmıştır.

SMA sınırlı sayıda olguda fokal ve minimal şiddette izlendi. KH-B steatoz (-) olguların hiçbirinde immünekspresyon görülmedi. Zon-1 dağılımı, Grup-1 ve Grup-2'de ikişer olguda saptandı. Zon-3 dağılımı Grup-1'de 1 olgu, Grup-3'te 3 olgu ve Grup-4'te 3 olguda görüldü. Zon-1ve zon-3 dağılımı Grup-1, Grup-3 ve Grup-4'te birer olguda görüldü. Hiçbir grupta azonal veya panasiner dağılım yoktu (Tablo I).

CD56 (NCAM) Grup-1'de 6 olguda ve Grup-2'de 12 olguda saptanmadı. KH-B steatohepatit ve HBV (-) steatohepatit olgularında boyanma şiddeti daha belirgindi (Tablo I).

2.1. Gruplar arasındaki SMA ve CD56 değerlerinin karşılaştırılması: KH-B steatoz (-) ve KH-B steatoz (+) grupları arasında, SMA dağılımı ve yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,043$). Bu iki grup arasında CD56 dağılımı ve CD56 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktu. KH-B steatoz (-) ve KH-B steatohepatit grupları ara-

sında, SMA dağılımı ve yoğunluğu bakımından istatistiksel anlamlılık saptandı ($p=0,021$). Bu iki grup CD56 dağılım ve yoğunluğu açısından karşılaştırıldıklarında belirgin anlamlılık ($p<0,001$) olduğu görüldü. KH-B steatoz (+) ve KH-B steatohepatit (+) grupları arasında SMA dağılım ve yoğunluğu açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Bu gruplar arasında CD56 dağılımı arasında belirgin fark ($p<0,001$) izlenmesine karşın, CD56 yoğunluğu açısından gruplar arasında fark yoktu. KH-B (+) steatohepatit (+) ve KH-B (-) steatohepatit (+) grupları arasında SMA dağılımı ve yoğunluğu açısından fark saptanmadı. CD56 dağılımı açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan fark saptandı ($p<0,001$); ancak, gruplar arasında CD56 boyanma yoğunluğu istatistiksel farklılık göstermedi (Şekil 1).

2.2. Histomorfolojik parametrelere göre SMA ve CD56 durumunun karşılaştırılması: Gruplardan bağımsız tüm olgularda, histomorfolojik parametreler ile immünohistokimya sonuçları arasındaki ilişki sorgulandı. Yağlanma derecesi ile SMA dağılım ve yoğunluğu arasında ilişki saptanmamasına karşın, CD56 dağılım ve yoğunluğu ile ilişki belirgindi ($p<0,001$). Yağlanma paterni ile SMA dağılımı arasında ilişki izlenmedi, ancak CD56 dağılımı ile belirgin ilişki saptandı ($p<0,001$). Balonlaşma dejenerasyonu SMA dağılım ve yoğunluğu ile ilişkili bulunmazken, CD56 dağılımı ve yoğunluğuyla ilişkili bulundu ($p<0,001$). Fibrozis evresi, SMA dağılım ve yoğunluğu ile ilişkili bulunmadı. CD56 dağılımı ile fibrozis evresi arasında ilişki saptandı ($p=0,01$), fakat CD56 yoğunluğuyla ilişki gösterilemedi. Fibröz bant yoğunluğu, SMA ve CD56 yoğunluğu ile ilişkili bulunmadı. SMA yoğunluğu ve CD56 yoğunluğu Spearman korelasyon testi ile analiz edildi, aralarında korelasyon saptandı ($p=0,01$). SMA dağılımı ve CD56 dağılımı Fisher exact testi ile karşılaştırıldığı zaman anlamlı ilişki izlendi ($p=0,009$) (Tablo II).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Küresel çapta önemli bir halk sağlığı sorunu olan KH-B'nin, yaklaşık 292 milyon kişiyi (dünya nüfusunun %3,9'unu) etkilediği bilinmektedir (15). Afrika ülkelerinde bu oran %10'a ulaşmaktadır. Türkiye, HBV enfeksiyonu açısından ılımlı endemik bir bölge olarak kabul edilmektedir (16).

Yağlı karaciğer hastalığı (YKH), obezite ve metabolik sendromun görülme sıklığının artmasıyla birlikte, dünya çapında karaciğer sirozunun ve hepatosellüler karsinomun (HSK) önemli bir nedeni haline gelmiştir. YKH'nin dünya nüfusunun yaklaşık %25'ini etkilediği düşünülmektedir (17).

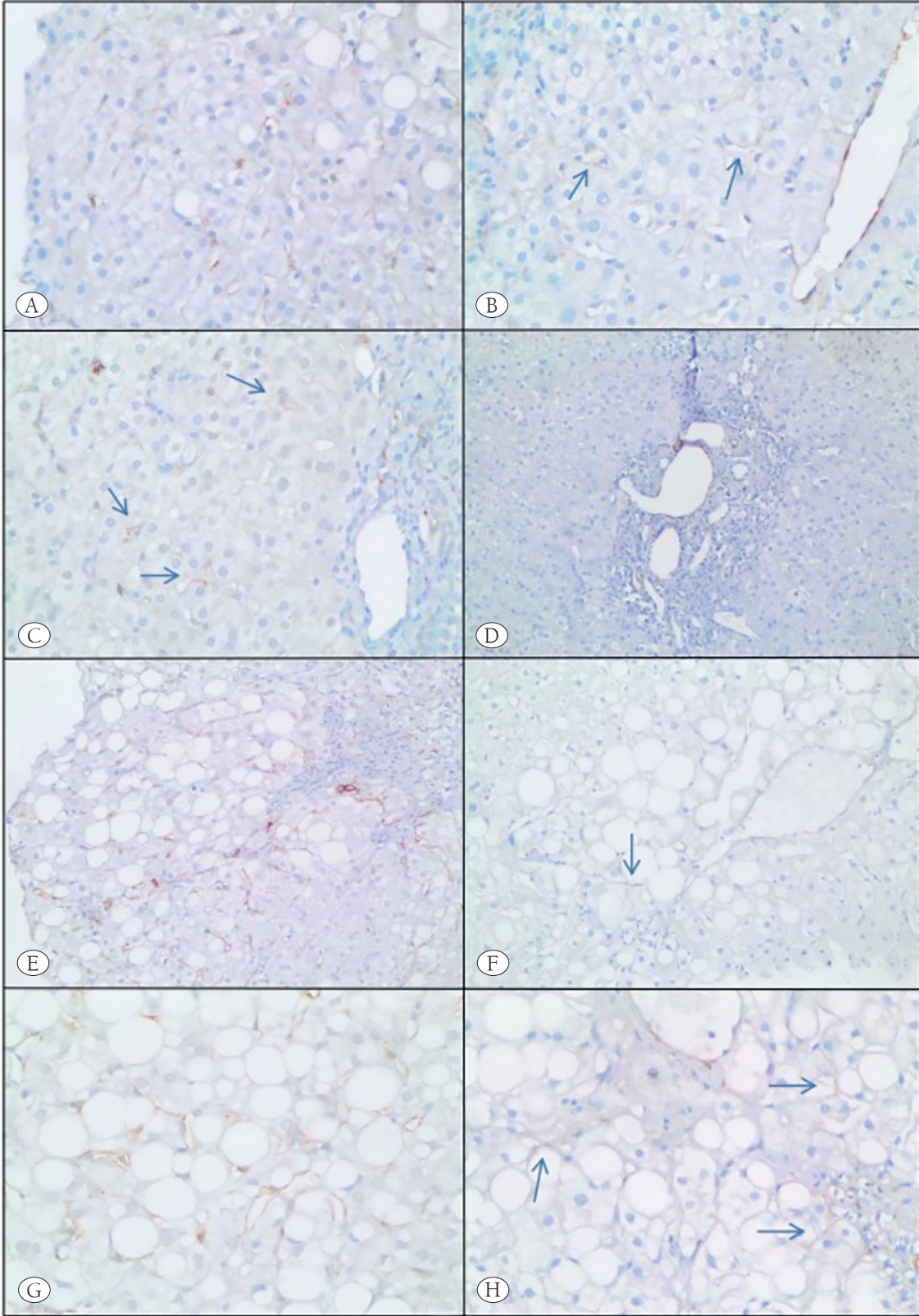
Viral hepatitlerde steatoz/steatohepatit sıklığı ve fibrojenze etkisinin değerlendirildiği araştırmalar, HCV ile enfekte hastalar üzerinde gerçekleştirilmiş ve HCV ile hepatosteatoz ilişkisini net olarak ortaya koymuştur (18). HBV enfeksiyonu ve neden olduğu hepatik steatoz patogenezi moleküler düzeyde açıklayan deneysel yayınlar bulunmakla birlikte (19), HBV ve hepatik steatoz arasındaki ilişki zayıf ve tartışmalı kalmaya devam etmektedir.

Tablo I. Olgulara ait detaylı analiz sonuçları; histomorfolojik bulgular ve immünohistokimya sonuçları.

		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Yağlanma Derecesi	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-
	%1-32	18	90	-	-	2	9,1	-	-
	%33-65	1	5	-	-	10	45,45	8	36,4
	>%66	1	5	-	-	10	45,45	14	63,6
Yağlanma Patterni	Yok	-	-	-	-	-	-	1	4,5
	Zon1	-	-	-	-	-	-	-	-
	Zon3	9	45	-	-	13	59	13	59,1
	Panasiner+azonal	11	55	-	-	9	41	8	36,4
Balonlaşma Dejenerasyonu	Yok	20	100	22	100	-	-	-	-
	Var	-	-	-	-	22	100	22	100
Fokal Nekroz	0	2	10	-	-	-	-	-	-
	1	1	5	10	45,5	4	20	6	27,3
	2	11	55	-	-	10	50	12	54,6
	3	4	25	9	40,9	6	30	3	13,6
	4	1	5	3	13,6	-	-	1	4,5
Fibrozis Evre	F0	2	10	-	-	-	-	-	-
	F1	6	30	9	40,9	11	50	5	22,7
	F2	1	5	-	-	2	9,1	5	22,7
	F3	9	45	6	27,3	8	36,4	7	31,9
	F4	2	10	7	31,8	1	4,5	5	22,7
Fibröz Bant Yoğunluğu	Yok	2	10	-	-	-	-	-	-
	Hafif	5	25	8	36,4	9	40,9	8	36,4
	Orta	10	50	4	18,2	7	31,8	3	13,6
	Belirgin	3	15	10	45,4	6	27,3	11	50
SMA zonal dağılım	Negatif	16	80	-	-	16	72,7	18	81,3
	Zon1+periseptal	2	10	-	-	2	9,1	-	-
	Zon3-/zon3	1	5	-	-	3	13,6	3	13,6
	Azonal+panasiner	-	-	-	-	-	-	-	-
	Zon1+zon3	1	5	-	-	1	4,6	1	4,6
SMA yoğunluk	Negatif	16	80	-	-	16	72,7	18	81,8
	1+	3	15	-	-	6	27,3	3	13,6
	2+	1	5	-	-	-	-	1	4,6
CD56(NCAM) zonal dağılım	Negatif	6	30	12	54,5	-	-	-	-
	Zon1+periseptal	9	45	10	45,5	-	-	5	22,7
	Zon3+zon3	2	10	-	-	14	63,6	13	59,1
	Azonal+panasiner	3	15	-	-	8	36,4	2	9,1
	Zon1+zon3	-	-	-	-	-	-	2	9,1
CD56(NCAM) yoğunluk	Negatif	6	30	12	54,5	-	-	-	-
	1+	8	40	9	41	9	41	5	22,7
	2+	4	20	1	4,5	6	27,2	14	63,6
	3+	2	10	-	-	7	31,8	3	13,6

HBV enfeksiyonlu hastalarda karaciğerde steatoz prevalansı dünya çapında yapılan farklı çalışmalara göre büyük ölçüde değişiklik göstermektedir (20,21). Zhong ve ark., KH-B'ye eşlik eden steatoz oranını %37,4 ve eş zamanlı SH oranını %24

olarak saptamışlardır (21). Machado ve ark. tarafından yapılan ve dünya çapında 17 çalışmayı içeren metaanaliz çalışmasında, HBV enfeksiyonlu hastalarda hepatik steatoz prevalansının %26,6 olduğu gösterilmiştir (20). Ancak, bu metaanaliz kap-



Şekil 1: KH-B, steatoz (+) (Grup 1) CD56 İHK 40x (A)/SMA İHK 40x (B).
KH-B steatoz (-) (Grup 2) CD56 İHK 40x (C)/SMA İHK 20x (D).
KH-B steatohepatit (+) (Grup 3) CD56 İHK 20x (E)/SMA İHK 20x (F).
KH-B (-) steatohepatit (+) (Grup 4) CD56 İHK 40x (G)/SMA İHK 40x (H).

Tablo II: Histomorfolojik parametreler ile immünohistokimya belirteçleri arasındaki ilişki.

	SMA Dağılımı	SMA Yoğunluğu	CD56 Dağılımı	CD56 Yoğunluğu
Yağlanma Derecesi	p=0,061	p=0,123	p<0,001	p<0,001
Balonlaşma Dejenerasyonu	p=0,271	p=0,14	p<0,001	p<0,001
Fibrozis Evresi	p=0,063	p=0,93	p=0,01	p=0,64

samındaki yedi çalışma viral yükün hepatik steatoz üzerinde güçlü negatif etkisi olduğunu bildirmiştir (20).

Klinik çalışmalar, KH-B'de hepatik steatoz gelişiminde viral faktörlerden ziyade konak metabolik faktörlerin önemli olduğunu öne sürmüştür (22). KH-B hastalarında, özellikle de metabolik sendrom ve/veya steatohepatitle ilişkili gerçek klinik durum varsa, karaciğer hastalığının kötüleşmesi açısından HBV'nin bir kofaktör rolü oynayabileceği ileri sürülmekle birlikte (23) bu konu da tartışmalıdır (10).

Son yıllarda karaciğer yağlanması yaygınlığı arttıkça, KH-B ve YKH'nın birlikte görüldüğü olgular da doğal olarak artış göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, KH-B tanılı hastaların %27-51'e yağlanmanın eşlik ettiği bildirilmektedir. Biyopsi ile kanıtlanmış YKH ise, KH-B hastalarının %20'sinde görülmektedir (9). YKH basit yağlanmadan, steatohepatite (SH) ve şiddetli fibrozise ilerleyebilir, siroz ve/veya HSK ile sonuçlanabilir.

Hepatik steatoz, hepatosit sitoplazmalarında aşırı lipid birikimidir ve adaptif bir yanıt olan küçük- ve/veya iri-veziküler makrosteatozu tanımlar. Araştırmacıların çoğu steatozu, karaciğer ağırlığının %5'ini aşan trigliserid içeriği olarak belirtir (24). Morfolojik olarak kabul edilen, intrahepatik steatoz oranının $\geq$ %5 olmasıdır. Bu doğrultuda çalışmamızda %5 veya daha az makrosteatoz gösteren olgular KH-B steatoz negatif grubu (Grup-2'yi) ve %5'ten fazla makrosteatoz gösteren olgular KH-B steatoz negatif grubu (Grup-1'i) oluşturmuştur. Steatoz derecelendirmesinde, AD-YKH biyopsilerinin rutin değerlendirmesindeki mevcut kriterler kullanılmıştır.

Çalışmamızda SH tanısı için, literatürle uyumlu olarak hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu, Mallory-Denk cisimcikleri ve perisinüzoidal fibrozisten en az birinin karaciğer biyopsisinde bulunması dikkate alınmıştır. HBV pozitif steatohepatit olguları Grup-3'ü, HBV negatif steatohepatit olguları Grup-4'ü oluşturmuştur.

Peng ve ark., karaciğer biyopsisi yapılan KH-B enfeksiyonu olan toplam 153 yetişkin hastayı değerlendirmiş, ancak karaciğer fibrozis evresi ile hepatik steatoz şiddeti arasında anlamlı bir korelasyon saptamamışlardır (25).

Huang ve ark., 1081 KH-B hastası ile yaptıkları çalışmada, 404 hastada (%37,4) eş zamanlı AD-YKH ve bunların %24'ünde (97/404) SH saptamışlardır. Steatozu olmayan ve olan hastalar

arasında ileri fibrozis oranı farklılık göstermemiştir (%47,3'e karşı %51,9; p=0,146). Steatoz varlığı, orta-şiddetli steatoz varlığı ve steatoz derecesinin fibrozis evresiyle ilişkiz olduğu görülmüştür (p>0,05). Uyguladıkları Spearman korelasyon analizinde, lobüler inflamasyon derecesinin yanı sıra balonlaşma dejenerasyon derecesinin, fibrozis evresiyle anlamlı şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (p<0,001). Sonuç olarak, AD-YKH'nın kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda yaygın olduğu, SH'nin ileri evre fibrozis risk artışı ile ilişkili olduğu ve bunun da KH-B hastalarında hastalık ilerlemesi açısından patogeneze katkı sağlayan bir etkiye işaret ettiğini bildirmişlerdir (26). Bu çalışmalar doğrultusunda steatoz ve/veya steatohepatitin hastalık ilerlemesi üzerindeki etkisi yönünden sonuçlar tartışmalıdır ve kesin bir çıkarıma ulaşılamamıştır. Çalışmamızda bu konuyu irdelemek açısından stellat hücrelerin aktivasyonu ile miyofibroblastlara dönüşümü üzerinde steatoz ve steatohepatit morfolojisinin etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, çalışmamızda grupları oluşturan biyopsi örneklerine SMA immünohistokimyası uygulanmıştır.

Karaciğer fibrozisi, hepatik parankiminin farklı bölgelerinde ekstraselüler matriks (ECM) birikimine neden olan, SMA gibi bir seri proteinin ekspresyonu ile başlayan ve esas olarak kollajen üretimi ile ilişkili olan hepatik stellat hücrelerin aktivasyonu ile karakterize bir süreçtir. Aldıkları uyarılar sonucu aktifleşerek miyofibroblastlara dönüşen stellat hücreler, tanımlanan bu süreçte büyük öneme sahiptir (27).

Çalışmamızda, steatozu olmayan KH-B olgularına ait farklı fibrozis evrelerindeki biyopsi örneklerinin hiçbirinde SMA immünekspresyonu saptanmamıştır. İleri evre (ISHAK, Evre 5-6) olgularda bile SMA immünekspresyonunun saptanmaması, olgularda aktif fibrogenezin süreklilik göstermediği, buna karşın oturmuş kollajen fibrozis varlığının bulunduğu savı ile bir ölçüde açıklanabilir. Bu gruptaki hastaların antiviral tedavi altında olup olmadıkları bilinmediği için antiviral tedavinin stellat hücre aktivasyonunu engellemiş olabileceği de kesin olarak dışlanamaz. Ayrıca, SMA'nın stellat hücrelerindeki miyofibroblastik farklılaşmayı tam anlamı ile yansıtamayabileceği düşünülebilir. Aslında aktif olan, henüz miyofibroblastik farklılaşmayı sağlayamamış stellat hücre varlığı bu olgularda düşünülebilir.

SMA yoğunluğu açısından, steatozu olmayan KH-B (Grup-2) ile steatozu olan KH-B (Grup-1) grupları karşılaştırıldığı za-

man saptanan istatistiksel anlamlılığa ($p=0,043$) kıyasla, Grup 2 ve Grup-3 (steatohepatiti olan KH-B) arasında saptanan istatistiksel anlamlılık daha belirgindir ($p=0,021$). Ancak çalışmamızda Grup-1 ile Grup-3 ve Grup-3 ile Grup-4 (HBV negatif steatohepatit) arasında SMA yoğunluğu açısından fark saptanmamıştır. Ayrıca, tüm gruplar birlikte değerlendirildiği zaman steatoz derecesi ile SMA yoğunluğu arasında da ilişki yoktur. Bu sonuçlar, yalnız yağlanma varlığının bile SMA aktivasyonunu açısından yeterli olabileceğini yansıtır olabilir. Ancak en akılcı çıkarım, yağlanmanın lobüler inflamasyonu tetikleyerek bu duruma yol açabilmiş olmasıdır SMA dağılımı da gruplar arasında benzer istatistiksel sonuçların saptanmasına yol açmıştır. SMA immünekspresyonu saptanan Grup-1, Grup-3 ve Grup-4 olgularda dağılım yağlanmanın baskın olduğu perisantal alanda daha yüksek oranda izlenmesine karşın, yağlanma dağılımı ile ilişki istatistiksel anlamlılık kazanmamıştır. Benzer durum, SMA dağılım ve yoğunluğu ile fibrozis derecesi ve balonlaşma derecesi arasında da geçerlidir ($p>0.05$).

Karacaer ve ark., steatozu olan ve olmayan 254 genç erkek KH-B hastasında steatozun nekroinflamasyon ve fibrozis üzerine etkisini araştırmışlardır. Steatozu olan hastalarda, daha ileri evre fibrozis ($p=0,012$; $r=0,158$) ve daha yüksek histolojik aktivite indeksi (HAI) ($p=0,029$; $r=0,137$) olduğunu bulmuşlardır (28). Estakhri ve ark. tarafından benzer sonuçlar elde edilmiştir (29). Belirtilen her iki çalışmada HBV DNA değerleri ile karaciğer hastalığının şiddeti arasında bir ilişki saptanmadığını belirtmek önemlidir (28,29).

Çalışmamızda saptadığımız SMA yoğunluğu ile steatoz varlığı ilişkisi, belirtilen bu çalışmalar ile örtüşmektedir. Çalışmamızda, gruplar arasında fibrozis evreleri denkleştirildiği için net bir yorum yapmak olası olmamakla birlikte yağlanma varlığının süregelen stellat hücre aktivasyonuna neden olduğu düşünülebilir.

Machado ve Diehl'in yaptıkları çalışmada, lobüler inflamasyon ve balonlaşma dejenerasyonunun karaciğer fibrozis şiddeti üzerinde önemli etkileri olduğunu, ancak steatozun etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir. Bu bulguları, steatozun değil ancak SH'in KH-B hastalarında fibrozis ilerlemesinden sorumlu olduğu sonucunu güçlendirmiştir (30). Çalışmamızda, KH-B olguları arasında steatoz ve steatohepatit grupları karşılaştırıldığı zaman, Machado'nun çalışmasıyla benzer bir sonuç elde edilememiştir; bu durum gruplardaki olgu sayılarının sınırlı olması ile açıklanabilir.

Karaciğerdeki doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bir bileşeni olarak NK hücrelerinin, karaciğer fibrozisinde antifibrotik işlevi olduğu var sayılmaktadır. Toksik ve/veya viral uyarana yanıt olarak gelişen hepatosit hasarı, stellat hücreleri ve NK hücrelerini aynı zamanda uyarır. Reseptör-ligand etkileşimleri yoluyla, NK hücrelerinin granül ekzositozu, TRAIL ve FasL aracılı apoptoz ve antifibrotik sitokinlerin salgılanması dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla aktifleşmiş he-

patik stellat hücrelerin ve virüsle enfekte olmuş hepatositlerin öldürülmesini sağlayarak fibrozis gelişimini yavaşlattığı ve/veya durdurduğu düşünülmektedir (31).

Son yayınlar, NK hücrelerinin stellat hücre apoptozunu indükleyerek ve antifibrotik sitokinlerin oluşumunu sağlayarak karaciğer fibrozisini sınırlayabildiğini göstermiştir (32). Yapılan az sayıda çalışmada, NK hücrelerinden türetilen ekzosomların hepatik stellat hücrelerin çoğalması ve aktivasyonu üzerinde inhibitör etki gösterdiği ve böylece fibrozisi geriletmediği görülmüştür (33). Ancak, hepatik hasarın kronikleşmesi ve/veya ileri evreye ilerlemesiyle, NK hücrelerinin işlevinin tükendiği, fibrozisi durdurmada başarısız oldukları öne sürülmektedir. Kamm ve Mc Commis., HCV enfeksiyonlu hastalarda stellat hücreleri ile ilişkili fibrozis ve NK aktivitesi arasındaki ters korelasyonu fark etmiştir (34). Fugier ve ark. tarafından da NK hücrelerini degranüle etme yeteneğinin, fibrozisin şiddetine bağlı olduğunu belirten gözlem doğrulanmıştır (35). Bu nedenle, NK hücrelerini hastalıkların erken evresinde aktive etmenin veya fibrozisin ileri evresinde restore etmenin, kronik karaciğer hastalıkları için umut verici tedavi stratejileri sağlayabileceği düşünülmektedir (31).

YKH'da NK hücrelerin rolü tartışmalıdır. Kompleks regülasyon söz konusudur ve süreç mikroçevreden belirgin olarak etkilenir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, SH olgularına ait karaciğer biyopsi örneklerinde NK hücrelerinin arttığı gösterilmiştir. Ancak, daha ilginç olarak, bazı yayınlarda NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesinin SH aşamasında azaldığı ve bunun hastalık progresyonunu artırmanın yanı sıra fibrogenezi tetiklediği yönünde çalışmalar da bulunmaktadır (36).

Dokuda bulunan NK hücreleri ve dolaşım yolu ile karaciğere ulaşan NK hücrelerin AD-YKH sürecinde farklı roller üstlendiği ve bu rollerin aktivitelemlerini kontrol eden mikroçevre ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. İnsanlarda NK hücreleri iki subtipdir: CD56^{dim}CD16⁺ fenotip ve CD56^{bright}CD16^{dim/+} fenotip. CD56^{dim}NK hücreleri hedef hücrede direkt sitotoksik etki gösterirken, CD56^{bright} NK hücrelerin aktifleşebilmesi için sitotoksik mekanizmaların regülasyonunun sağlanması gereklidir. CD56^{bright} NK hücrelerin özellikle SH sürecinde etkin olduğu düşünülmektedir (36).

Çalışmamızda, steatozu olmayan KH-B olgularının on tanesinde periportal/perisantal alanda; steatozu olan KH-B olgularının dokuz tanesinde periportal/perisantal alanda, iki tanesinde perisantal alanda ve üç tanesinde panasiner dağılımda olmak üzere 14 olguda CD56 ekspresyonu saptanmıştır. Bu doğrultuda Grup-1 ve Grup-2 arasında CD56 yoğunluğu ve dağılımı açısından istatistiksel açıdan fark saptanmamıştır. Ancak çalışmamızda, Grup-2 (steatozu olmayan KH-B) ve Grup-3 (steatohepatiti olan KH-B) arasında CD56 ekspresyon yoğunluğu ve CD56 dağılımı açısından istatistiksel anlamlılık belirgindir ($p<0,001$). Grup-2'de dağılım periportal/periseptal alanda, Grup-3'te ise perisantal alanda dağılım saptanmıştır.

KH-B olguları arasında steatoz izlenen (Grup-1) ve steatohepatit izlenen (Grup-3) arasında CD56 yoğunluğu steatohepatit olgularında daha yüksek derecede izlenmekle birlikte istatistiksel anlamlılık seviyesine ulaşmamıştır ($p=0,076$). Ancak Grup-1'de CD56 dağılımı periportal/perisantral ağırlıklı iken, Grup-3'te perisantral veya panasiner ağırlıklıdır ($p<0,001$). Grup-3 (steatohepatiti olan KH-B) ve Grup-4 (steatohepatit, KH-B negatif) arasında yoğunluk izlenmesine karşın, dağılım açısından istatistiksel anlamlı farklılık izlenmiştir ($p=0,007$).

Çalışmamızda tüm gruplardaki olgular birlikte değerlendirildiği zaman, yağlanma derecesi ve balonlaşma derecesi arttıkça CD56 yoğunluğundaki artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$); ayrıca CD56 dağılımı ile de ilişkili saptanmıştır ($p<0,001$). Fibrozis evresi ile CD56 yoğunluğu arasında ilişki saptanmamasına karşın, CD56 dağılımı ile fibrozis evresi istatistiksel anlamlı ilişki ortaya koymuştur ($p=0,01$). Düşük evrelerde dağılımın perisantral alanlarda yoğunlaştığı görülmüştür. Elde ettiğimiz CD56 ilişkili veriler, özellikle steatohepatit aşamasındaki inflamatuvar yanıtta CD56'nın etkin rol aldığını desteklemektedir. Bu bulgu literatürle uyumludur; ancak NK hücre alt tiplerinin çalışmamızda net olarak ortaya konulamaması nedeniyle süreç ile ilişkili net yorum yapmak olası değildir.

Çalışmamızda SMA yoğunluğu ile CD56 yoğunluğu arasındaki korelasyon istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p=0,01$). Benzer durum SMA ve CD56 dağılımı açısından da geçerlidir ($p=0,009$). Karaciğerde hasar oluşturan herhangi bir etkenin stellat hücre ve CD56'yı benzer koşullarda aktive ettiği düşünüldüğünde, bu bulgu şaşırtıcı değildir. Ancak CD56 ekspresyon artışının stellat hücrelerde miyofibroblastik farklılaşmayı CD56 ekspresyonu ile paralel bir şekilde artırmış olabileceği de düşünülebilir; bu durum CD56'nın SH olgularında fibroge-neze katkı sağladığını gösterebilir.

Çalışmamızın başlıca kısıtlılığı, histopatolojik değerlendirme esas alınarak planlanmış ve yapılmış olmasıdır. Biyopsileri değerlendirilen hastaların klinik bilgilerine, özellikle eşlik eden diabetes mellitus veya dislipidemi durumuna ulaşamamış olması ve karaciğer fonksiyon testlerini içeren laboratuvar verileriyle birlikte sunulmaması çalışmanın kısıtlılığı olarak kabul edilebilir. SMA dışında farklı aktif stellat hücre belirteçlerinin kullanılmaması da yorum yapılmasını sınırlamıştır. Benzer şekilde CD56 subtiplerine yönelik ek belirteçlerin uygulanmaması KH-B ve/veya AD-YKH patogenezinde ön planda olan mekanizmaların ortaya çıkarılmasını güçleştirmiştir.

Sonuç olarak çalışmamız, özellikle steatohepatit izlenen KH-B olgularında aktif fibroge-nez sürecinin devam ettiğinin gösterilmesi açısından anlamlıdır. Fibroge-nez sürecine CD56 pozitif NK hücrelerin katkısı net olarak açığa çıkarılmamış olmakla birlikte özellikle steatohepatit sürecinde CD56'nın rolü olduğunu göstermektedir.

Bildirimler

Araştırma Desteği: Bu araştırma için herhangi bir maddi destek alınmamıştır.

Veri Güvenliği ve Verilerin Sorgulanması: Veri güvenliği ihlali yaşanmamıştır. Mevcut çalışma sırasında oluşturulan ve/veya analiz edilen veri setleri, makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

Çıkar Çatışması: Yazarların çıkar çatışması yoktur.

YAZAR KATKILARI

Çalışmanın fikri veya tasarımı: ÇAÇ.

Veri toplama: ST.

Veri analizi ve yorumlama: ST, MFT, ÇAÇ.

Makale taslağının hazırlanması: ST, ÇAÇ.

Makalenin kritik revizyonu: ST, ÇAÇ.

Diğer (çalışma denetimi, fonlar, gereç, vb...): ST, ÇAÇ.

Tüm yazarlar (ST, MFT ve ÇAÇ) sonuçları gözden geçirmiş ve makalenin son hâlini onaylamıştır.

KAYNAKLAR

1. Liang J, Liu F, Wang F, Han T, Jing L, Ma Z, Gao Y. A noninvasive score model for prediction of NASH in patients with chronic hepatitis b and nonalcoholic fatty liver disease. Biomed Res Int. 2017;2017:8793278. DOI: 10.1155/2017/8793278 Epub 2017 Mar 2 PMID: 28349067 PMCID: PMC5352864.
2. Sharma P, Arora A. Clinical presentation of alcoholic liver disease and non-alcoholic fatty liver disease: spectrum and diagnosis. Transl Gastroenterol Hepatol. 2020;5:19. DOI: 10.21037/tgh.2019.10.02 PMID: 32258523 PMCID: PMC7063523.
3. Yapalı S, Çiçek B. Fatty Liver Disease: Understanding the New Terminology and Clinical Management. Güncel Gastroenteroloji Dergisi, 2023;25(3): 133-144.
4. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc. 1980;55:434-438. PMID: 738252.
5. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. Semin Liver Dis. 2001;21:3-16. DOI: 10.1055/s-2001-12925 PMID: 11296695.
6. Day CP, James OF. Hepatic steatosis: innocent bystander or guilty party? Hepatology. 1998;27:1463-1466. DOI: 10.1002/hep.510270601 PMID: 9620314.
7. Delattre JF, Avisse C, Flament JB. Anatomic basis of hepatic surgery. Surg Clin North Am. 2000;80:345-62. DOI: 10.1016/s0039-6109(05)70409-6 PMID: 10685156.
8. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions. Am J Gastroenterol. 1999;94:2467-2474. DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x PMID: 10484010.
9. Minakari M, Molaei M, Shalmani HM, Mohammad Alizadeh AH, Jazi AH, Naderi N, Shavakhi A, Mashayekhi R, Zali MR. Liver steatosis in patients with chronic hepatitis B infection: host and viral risk factors. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2009;21:512-516 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328326792e PMID: 19190500.
10. Lim CT, Kumar R. Hepatitis B and concomitant hepatic steatosis. Ann Transl Med. 2017;5:38. DOI: 10.21037/atm.2016.12.04 PMID: 28251117 PMCID: PMC5326645.

11. Kierszenbaum A.L. histoloji ve hücre biyolojisi: patolojiye giriş. Çev. Demir R. Ankara: Palme Yayıncılık: 2006. s.459-65.
12. Yang M, Vanderwert E, Kimchi ET, Staveley-O'Carroll KF, Li G. The important roles of natural killer cells in liver fibrosis. *biomedicines*. 2023;11:1391. DOI: 10.3390/biomedicines11051391 PMID: 37239062 PMCID: PMC10216436.
13. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN, Phillips MJ, Portmann BG, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995;22:696-699. DOI: 10.1016/0168-8278(95)80226-6 PMID: 7560864.
14. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Pathologic features and differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol*. 2005;22:330-338. DOI: 10.1053/j.semdp.2006.04.002 PMID: 16939061.
15. Howell J, Pedrana A, Schroeder SE, Scott N, Aufegger L, Atun R, Baptista-Leite R, Hirschschall G, 't Hoen E, Hutchinson SJ, Lazarus JV, Olufunmilayo L, Peck R, Sharma M, Sohn AH, Thompson A, Thursz M, Wilson D, Hellard M. A global investment framework for the elimination of hepatitis B. *J Hepatol*. 2021;74:535-549. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.09.013 Epub 2020 Sep 22 PMID: 32971137 PMCID: PMC7505744.
16. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*. 2012;30:2212-2219. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.116 Epub 2012 Jan 24 PMID: 22273662.
17. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15:11-20. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.109 Epub 2017 Sep 20 PMID: 28930295.
18. Haga Y, Kanda T, Sasaki R, Nakamura M, Nakamoto S, Yokosuka O. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatic cirrhosis: Comparison with viral hepatitis-associated steatosis. *World J Gastroenterol*. 2015;21:12989-12995. DOI: 10.3748/wjg.v21.i46.12989 PMID: 26675364 PMCID: PMC4674717.
19. Wu YL, Peng XE, Zhu YB, Yan XL, Chen WN, Lin X. Hepatitis B virus X Protein induces hepatic steatosis by enhancing the expression of liver fatty acid binding protein. *J Virol*. 2015;90:1729-1740. DOI: 10.1128/JVI.02604-15 PMID: 26637457 PMCID: PMC4733992.
20. Machado MV, Oliveira AG, Cortez-Pinto H. Hepatic steatosis in hepatitis B virus infected patients: Meta-analysis of risk factors and comparison with hepatitis C infected patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26:1361-1367. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06801.x. PMID: 21649726.
21. Zhong GC, Wu YL, Hao FB, Rao XW, Yuan XW, Zhao Y, Gong JP. (2018). Current But Not Past Hepatitis B Virus Infection Is Associated with a Decreased Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the Chinese Population: A Case-Control Study with Propensity Score Analysis. *J. Viral Hepat*. 25, 842-852. doi: 10.1111/jvh.12878.
22. Ben Slama Trabelsi A, Ksiai A, Souguir A, Issaoui D, Sriha B, Ajmi S. La stéatose hépatique au cours de l'hépatite chronique B: prévalence, facteurs de risque, et effet sur la fibrose et la réponse thérapeutique [Hepatic steatosis in chronic hepatitis B: prevalence, risk factors, and impact on fibrosis and therapeutic response]. *Tunis Med*. 2013;91:431-434. French PMID: 24008872.
23. Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan HY, Chan FK, Sung JJ, Chan HL Metabolic syndrome increases the risk of liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Gut*. 2009;58:111-117. DOI: 10.1136/gut.2008.157735 Epub 2008 Oct 2 PMID: 18832522.
24. Vere CC, Neagoe D, Streba CT, Prejbeanu I, Ianoși G, Comnescu V, Pirici D. Steatosis and serum lipid patterns in patients with chronic viral hepatitis: differences related to viral etiology. *Rom J Morphol Embryol*. 2010;51:509-514. PMID: 20809028.
25. Peng D, Han Y, Ding H, Wei L. Hepatic steatosis in chronic hepatitis B patients is associated with metabolic factors more than viral factors. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:1082-1088.
26. Huang Y, Gan Q, Lai R, Wang W, Guo S, Sheng Z et al. Application of fatty liver inhibition of progression algorithm and steatosis, activity, and fibrosis score to assess the impact of non-alcoholic fatty liver on untreated chronic hepatitis B patients. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;11:733348. DOI: 10.3389/fcimb.2021.733348 PMID: 35111690 PMCID: PMC8801606.
27. Anapalı M, Balkan E. Role of cytokines in liver fibrosis. *Kafkas J Med Sci*. 2021;11:111-122. DOI: 10.5505/kjms.2021.75537.
28. Karacaer Z, Okur G, Cermik H, Altun D. Is there an influence of hepatic steatosis on fibrosis and necroinflammation in young patients with chronic viral hepatitis B? *Postgrad Med*. 2016;128:697-700. DOI: 10.1080/00325481.2016.1221733 Epub 2016 Aug 18 PMID: 27499150.
29. Estakhri A, Sari AA, Nedjat SN., Rohban M, Rakhshani N, Tavangar S, Malekzadeh R, Montazeri G. The effect of NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) on long-term outcome of chronic hepatitis B in Iranian patients. *Open J. Gastroenterol*. 2012; 2 DOI: 10.4236/ojgas.2012.21004.
30. Machado MV, Diehl AM. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2016;150:1769-1777. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.02.066 Epub 2016 Feb 27 PMID: 26928243 PMCID: PMC4887389.
31. Wei Y, Bingyu W, Lei Y, Xingxing Y. The antifibrotic role of natural killer cells in liver fibrosis. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2022;247:1235-1243. DOI: 10.1177/15353702221092672 Epub 2022 Apr 27 PMID: 35475367 PMCID: PMC9379607.
32. Gao B, Radaeva S, Jeong WI. Activation of natural killer cells inhibits liver fibrosis: A novel strategy to treat liver fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2007;1:173-180. DOI: 10.1586/17474124.1.1.173 PMID: 19072444.
33. Wang L, Wang Y, Quan J. Exosomes derived from natural killer cells inhibit hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Hum Cell*. 2020;33:582-589. DOI: 10.1007/s13577-020-00371-5 Epub 2020 May 24 PMID: 32449114.
34. Kamm DR, McCommis KS. Hepatic stellate cells in physiology and pathology. *J Physiol*. 2022;600:1825-1837. DOI: 10.1113/JP281061 Epub 2022 Mar 30 PMID: 35307840 PMCID: PMC9012702.
35. Fugier E, Marche H, Thélou MA, Macek Jílková Z, Van Campenhout N, Dufeu-Duchesne T, Leroy V, Zarski JP, Sturm N, Marche PN, Jouvin-Marche E. Functions of liver natural killer cells are dependent on the severity of liver inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C. *PLoS One*. 2014;9:e95614 DOI: 10.1371/journal.pone.0095614 PMID: 24759660 PMCID: PMC3997478.
36. Martínez-Chantar ML, Delgado TC, Beraza N. Revisiting the role of natural killer cells in non-alcoholic fatty liver disease. *Front Immunol*. 2021;12:640869. DOI: 10.3389/fimmu.2021.640869 PMID: 33679803 PMCID: PMC7930075.