

فریتین سرم و نسبت آنزیم‌های کبدی و توافق آنها با شدت کبد چرب غیرالکلی

سودابه علی اشرفی^۱، مهرانگیز ابراهیمی ممقانی^۲، پردیس ایران دوست^۱، فاطمه حمزوی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی، بخش ایمنولوژی، مرکز آموزشی درمانی و تحقیقاتی امام رضا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

یافته / دوره پانزدهم / شماره ۵ / زمستان ۹۲ / مسلسل ۵۸

چکیده

دریافت مقاله: ۹۲/۹/۱۰، پذیرش مقاله: ۹۲/۱۱/۱۹

*** مقدمه:** کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) شایع‌ترین بیماری کبدی است. در این بیماری به دلیل آسیب و کارکرد غیر طبیعی سلول‌های کبدی افزایش سطوح آنزیم‌های کبدی مشاهده می‌شود. در اغلب موارد افزایش سطح فریتین سرم به عنوان پارامتری از وضعیت کارکردی کبد مشاهده می‌شود. هدف مطالعه حاضر تعیین توافق بین آنزیم‌های کبدی و فریتین با درجه اکوژنیسته کبدی بر اساس سونوگرافی در بیماران NAFLD است.

*** مواد و روش‌ها:** مطالعه مقطعی حاضر بر روی ۶۰ بیمار NAFLD تایید شده با اولتراسونوگرافی در تبریز انجام گردید. از کلیه افراد نمونه خون ناشتا تهیه و در سرم آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و فریتین اندازه گیری شد. قد و وزن ارزیابی گردید. نسبت آنزیم‌های کبدی محاسبه و به سهک ها تقسیم بندی شد.

*** یافته‌ها:** میانگین فریتین سرم $126/34 \pm 108/25$ ng/ml بود که تفاوت معنی‌دار با شدت اکوژنیسته کبدی نشان داد ($P=0/016$). ارتباط معنی‌داری میان درجه کبد چرب و نسبت آنزیم‌های ALT/AST وجود داشت ($P=0/004$) و میزان توافق (عدد کاپا) $68/3\%$ بود، در حالی که توافق معنی‌دار میان نسبت فریتین به این دو آنزیم با شدت کبد چرب نشان نداد.

*** بحث و نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از توافق بین شدت بیماری کبد چرب با سطح فریتین سرم و نسبت آنزیم‌های کبدی در بیماران NAFLD اما نه با نسبت فریتین به آنزیم‌های کبدی می‌باشد.

*** واژه‌های کلیدی:** کبد چرب غیر الکلی، فریتین، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، شدت کبد چرب.

آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده بهداشت و تغذیه، مرکز تحقیقات علوم تغذیه.

پست الکترونیک: ebrahimimamagani@tbzmed.ac.ir

مقدمه

کبد چرب غیر الکلی (NAFLD)^۱، تجمع چربی به ویژه تری‌گلیسرید در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی به میزان بیش از ۵-۱۰ درصد وزن کبد، شایع‌ترین بیماری کبدی در سراسر جهان است و شمار مبتلایان به این بیماری در حال افزایش است (۱). NAFLD شامل طیفی از علائم بالینی و پاتولوژیکی از یک استئاتوز کبدی ساده تا استئاتوهپاتیت غیر الکلی، فیبروز، سیروز و کارسینوم هپاتوسلولار است (۲).

افزایش سطوح آهن به خصوص فریتین در بیماری NAFLD نشانگر آسیب سلول‌های کبدی است (۳). فریتین، پروتئین اصلی ذخیره‌کننده آهن در بدن و واکنش‌گر فاز حاد است که در این بیماری افزایش نشان می‌دهد (۴) اما تاکنون نقش آن در پاتوژنز NAFLD به طور کامل به اثبات نرسیده است (۵،۶). برخی از شواهد حاکی از آن است که سلول‌های آندوتلیال کبدی در پاسخ به افزایش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید سبب آزاد شدن فریتین می‌شوند (۷).

تعدادی از مطالعات *in vitro* و *in vivo* نشان داده‌اند که در هپاتوسیت‌ها سایتوکاین‌های پیش التهابی همچون $\text{TNF-}\alpha$ ^۲ سبب افزایش رونویسی از mRNA فریتین در ماکروفاژ و انتقال آن به هپاتوسیت و متعاقب آن منجر به افزایش سطوح فریتین در سرم می‌شوند. تناقضاتی بین فریتین با شدت بیماری کبد چرب وجود دارد. برای مثال مطالعه‌ای نشان داد که فریتین سرم در شناسایی بیماران NAFLD در معرض خطر برای استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH)^۳ و فیبروز پیشرفته ابزار مفیدی می‌تواند تلقی گردد (۸). در حالی که برخی از مطالعات چنین ارتباطی را نیافتند (۷).

افزایش خفیف تا متوسط آمینوترانسفرازهای کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)^۴ و آسپارت آمینوترانسفراز (AST)^۵ علاوه بر

فریتین رایج‌ترین علامت آزمایشگاهی است که در ارزیابی و تشخیص NAFLD به کار گرفته می‌شود (۹). در واقع NAFLD دلیل اصلی افزایش آنزیم‌های کبدی در بیش از ۹۰٪ موارد است (۱۰). سطوح این آنزیم‌ها در بیماران مبتلا به NAFLD در مقایسه با افراد سالم به ندرت به ۴ برابر مقدار نرمال افزایش می‌یابد. اخیراً مطالعات نشان داده اند که ALT حتی در محدوده نرمال به عنوان یک نشانگر حساس برای بیان آسیب و کارکرد غیر طبیعی سلول‌های کبدی است (۱۱). درجه اکوژنیسته کبدی نیز به عنوان شاخصی در تعیین شدت کبد چرب در ارتباط با سطوح ALT و AST است (۱۲). اما مطالعاتی وجود دارند که نقش ALT را در شناسایی شدت NAFLD ضعیف شناسایی نموده‌اند (۱۳).

از آنجا که مطالعه در خصوص ارزیابی توافق میان سطح فریتین و شدت کبد چرب نادر است. مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط نسبت آنزیم‌های کبدی ALT/AST، نسبت فریتین به آلانین آمینوترانسفراز (Ferritin/ALT) و آسپارت آمینوترانسفراز (Ferritin/AST) با شدت تجمع چربی (شدت اکوژنیسته) در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

افراد مورد مطالعه: مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی-توصیفی است که بر روی ۶۰ بیمار مراجعه کننده به کلینیک شیخ الرئیس از دی ماه ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱ پس از کسب رضایت آگاهانه صورت گرفت. معیارهای ورود به مطالعه

1. Non- Alcoholic Fatty Liver Disease
2. Tumor Necrosis Factor- α
3. Nonalcoholic Steatohepatitis
4. Alanin Aminotransferase
5. Aspartate Aminotransferase

ALT/AST کمتر از ۲ و یک گروه از افراد با نسبت ALT/AST مساوی یا بیشتر از ۲ تقسیم گردیدند.

ارزیابی سونوگرافیک: وضعیت استئاتوز کبدی بیماران به روش سونوگرافی کبدی توسط یک سونوگرافیک که اطلاعاتی از وضعیت بالینی بیماران نداشت و به وسیله یک دستگاه ثابت Sonoacex4 Medison (ساخت کره جنوبی) در کلینیک شیخ الرئیس انجام شد. درجه‌بندی اکوژنیسیته کبدی به صورت زیر انجام گرفت.

"درجه صفر": وضعیت طبیعی، **"درجه یک":** استئاتوز خفیف (اکوژنیسیته مشابه قشر کلیوی) اکوژنیسیته پارانشیم کبد به صورت منتشر افزایش داشته و معمولاً با ساختار ظریف کبد همراه است، **"درجه دو":** استئاتوز متوسط (ورید پورتال قابل مشاهده) تشدید کاهش پرتو اولتراسوند وجود داشته که باعث تضعیف دیده شدن قسمت خاصی از کبد می‌شود و **"درجه سه":** استئاتوز شدید (ورید پورتال غیر قابل مشاهده) کاهش دیده شدن ورید پورت و هپاتیک احتمالاً ثانویه به دلیل فشرده شدن به وسیله پارانشیم حاوی چربی اطراف و همچنین تشدید بیشتر کاهش پرتو اولتراسوند می‌باشد.

آنالیز آماری: کلیه داده‌های مطالعه برای متغیرهای کمی پیوسته به شکل $\text{Mean} \pm \text{SD}$ و برای متغیرهای کیفی به شکل تعداد و درصد گزارش گردید. جهت تعیین همبستگی میان متغیرهای کمی با هم از ضریب همبستگی پیرسون و برای تعیین وابستگی میان یافته‌های سونوگرافیک به شکل درجه‌بندی شده و متغیرهای کمی طبقه‌بندی براساس نقاط برش از آزمون مجذور کای استفاده گردید. تعیین توافقی بین روش‌های مفروض با یافته‌های سونوگرافیک از ضریب توافقی Kappa استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمامی آزمون‌ها $P < 0.05$ تعیین گردید.

شامل ابتلا به NAFLD (مشاهده استئاتوز در سونوگرافی کبد)، محدوده سنی ۵۰-۲۰ سال از هر دو جنس، نمایه توده-ی بدن (BMI) بزرگتر یا مساوی ۳۰ کیلو گرم بر متر مربع و سطح فعالیت متوسط بود. معیارهای خروج از مطالعه مصرف الکل، بارداری یا شیردهی و یائسگی، ورزشکار بودن، بستری بودن، سابقه یا ابتلا به فشار خون بالا (خود گزارشی یا مصرف داروهای خاص آنها)، سابقه یا ابتلا به بیماری قلبی-عروقی، بیماری ریوی، بیماری کلیوی، انجام پیوند کبد، ابتلا به سایر بیماری‌ها و اختلالات مزمن یا حاد کبدی، بیماری‌های صفراوی، بیماری خودایمنی شناخته شده، سرطان، اختلالات ارثی موثر بر وضعیت کبد (بیماری ذخیره‌ای آهن و مس و...)، مصرف برخی داروها چون افزایشدهنده‌های حساسیت انسولینی، داروهای هپاتوتوکسیک مثل فنی‌توئین، آمبودارون، لووتیروکسین، آموکسیفن، لیتيوم و مصرف قرص‌های ضد بارداری و استروژن بود.

اندازه‌گیری‌های تن‌سنجی: قد افراد، توسط قدسنج با دقت ۰/۵ سانتی‌متر، وزن آنها با لباس سبک توسط ترازوی فنری Seca با دقت ۱۰۰ گرم انجام گرفت. شاخص توده بدنی (BMI)، با استفاده از تقسیم وزن بر کیلوگرم، بر مجذور قد بر حسب متر محاسبه گردید.

اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی خون: کلیه افراد پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی خون‌گیری و بعد از جداسازی سرم، فریتین سرم به روش ELISA^۱ با استفاده از کیت فریتین (Radem، ایتالیا) و آنزیم‌های کبدی AST و ALT به روش فتومتری توسط اتوآنالیزر LAOLA (FAIHT-1000) با استفاده از کیت‌های پارس آزمون انجام گردید. نسبت آنزیم‌های کبدی ALT/AST نسبت فریتین به ALT و AST برآورد گردید و به صورت سهک (Tertile) تقسیم‌بندی شدند. افراد بر اساس نسبت آنزیم‌های کبدی ALT/AST به دو گروه، شامل یک گروه افراد با نسبت

1. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۰ بیمار مبتلا به NAFLD (۲۶ مرد و ۳۴ زن) در محدوده‌ی سنی ۵۰-۲۰ سال مورد بررسی قرار گرفتند. جدول ۱ میانگین آنزیم‌های کبدی و فریتین و نسبت‌ها را نشان می‌دهد. جدول ۲ ویژگی‌های افراد مورد مطالعه را نشان می‌دهد. همبستگی مثبت معنی‌دار بین نسبت Ferritin/ALT و Ferritin/AST یافت شد ($r=0.952$ و $P=0.001$). همچنین نسبت آنزیم‌های کبد ALT/AST با نسبت Ferritin/ALT ارتباط معنی‌داری را نشان داد ($P=0.022$).

میانگین فریتین اختلاف معنی‌دار در افراد با درجه یک و دو کبد چرب نشان داد ($P=0.016$). در درجه سه اختلاف معنی‌داری در میانگین فریتین در این گروه با سایر درجات کبد چرب مشاهده نشد. در این مطالعه ۳۰٪ افراد در سهک اول ($\leq 1/1$)، ۳۵٪ افراد در سهک دوم ($1/11-1/44$) و ۳۵٪ در سهک سوم ($\geq 1/45$) نسبت ALT/AST قرار داشتند.

توافق دو روش سونوگرافی و نسبت آنزیم‌های کبدی ALT/AST در تعیین کبد چرب ۶۸/۳٪ می‌باشد، به نحوی که در ۶۸/۳٪ موارد هر دو تست به طور مشابه تعیین وضعیت کبد چرب می‌کنند ($P=0.016$ و $Kappa=0.024$) در مقابل نسبت Ferritin/ALT یا Ferritin/AST با وضعیت سونوگرافی چنین توافقی را نشان نداد (جدول ۳).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار سطح فریتین و آنزیم‌های کبدی و نسبت‌های آنها

متغیر	انحراف معیار $\pm$ میانگین
فریتین (نانو گرم در میلی لیتر)	126.34 ± 10.825
ALT (واحد بین المللی در لیتر)	42.11 ± 28.45
AST (واحد بین المللی در لیتر)	29.01 ± 21.79
نسبت ALT/AST	$2/0.5 \pm 0.81$
نسبت Ferritin/ALT	$2/0.0 \pm 0.82$
نسبت Ferritin/AST	$2/0.1 \pm 0.81$

جدول ۲. ویژگی‌های دموگرافیک و تن سنجی در افراد

متغیر	انحراف معیار $\pm$ میانگین
سن (سال)	35.32 ± 8.50
وزن (Kg)	89.89 ± 11.38
قد (cm)	165.21 ± 10.31
نمایه توده بدن (kg/m^2)	33.50 ± 4.27
متغیر	(درصد) تعداد
متاهل	۵۳ (۸۸/۳)
سطح تحصیلات	
پیسواد	۱ (۱/۷)
ابتدایی و راهنمایی	۲۰ (۳۳/۳)
دیپلم، فوق دیپلم، لیسانس	۳۵ (۵۸/۳)
فوق لیسانس و بالاتر	۴ (۶/۷)
شدت کبد چرب	
خفیف (درجه یک)	۳۶ (۶۰)
متوسط (درجه دو)	۱۹ (۳۱/۷)
شدید (درجه سه)	۵ (۸/۳)

جدول ۳. نسبت آنزیم‌های کبدی در درجات مختلف کبد چرب

ALT/AST		شدت کبد چرب
خفیف	متوسط و شدید	جمع
(درجه یک)	(درجه دو و سه)	
(درصد) تعداد	(درصد) تعداد	(درصد) تعداد
۳۶ (۶۰)	۱۹/۱ (۳۱/۷)	۵۵/۱ (۹۱/۷)
کمتر از ۲		
بیشتر یا مساوی ۲	۵ (۸/۳)	۵ (۸/۳)
جمع	۲۴ (۴۰)	۶۰ (۱۰۰)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر که با هدف تعیین وضعیت آنزیم‌های کبدی و نسبت‌های منتج از آنها در ارتباط با فریتین سرم با درجه اکوژنیسته کبدی در بیماران مبتلا به NAFLD صورت گرفت. تنها ارتباط معنی‌دار میان درجه کبد چرب بر اساس نتایج سونوگرافی با نسبت ALT/AST وجود دارد. در حالی که در خصوص سطح فریتین نسبت به آنزیم‌های کبدی چنین ارتباط و توافقی یافت نشد.

در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در میانگین فریتین و درجه یک و دو کبد چرب وجود داشت ولی به علت توزیع نامناسب درجات و کم بودن بیماران با درجه ۳ اختلاف معنی‌داری در میانگین فریتین در این گروه با سایر درجات

مشاهده نشد. در مطالعه آنگولو و همکاران بر روی ۱۴۴ بیمار NAFLD میزان فریتین سرم بعد از کنترل برای سن، چاقی، دیابت و نسبت AST/ALT به عنوان عوامل مخدوشگر ارتباط معنی‌داری با شدت NAFLD نشان نداد (۱۴) که در توافق با یافته‌های لوناردو و همکاران (۱۵) و یونوسی و همکاران (۱۶) است. در حالی که کودلی و همکاران در مطالعه خود در بیماران NAFLD نشان دادند که سطوح فریتین سرم تا حد ۱/۵ برابر میزان طبیعی آن افزایش یافته و به عنوان پیشگویی‌کننده مستقل فیروز پیشرفته کبدی در NAFLD مطرح شده است (۸) و در توافق با یافته‌های مطالعه حاضر است.

مکانیسم احتمالی جهت تحلیل ارتباط بین فریتین با شدت بیماری کبد چرب به دنبال پراکسیداسیون لیپید است که سبب پیشرفت استئاتوز کبد، افزایش استرس اکسیداتیو، تغییر در متابولیسم اسید چرب و فعال‌سازی سلول‌های ستاره‌ای می‌شود. در پاسخ به آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط پراکسیداسیون لیپید سلول‌های آندوتلیال کبدی سبب بیان افزایشی مولکول آنتی‌اکسیدانی هم اکسیژناز I و فریتین می‌شوند (۱۷).

واکنش بین آهن هم اکسیژناز و پورفیرین، سبب تولید مواد ردوکس در نتیجه آسیب کبدی می‌شود. از سوی دیگر فریتین به عنوان سایتوکاین پیش التهابی سبب فعال‌سازی سلول‌های ستاره‌ای و القای فسفوانوزیتول ۳ کیناز، پروتئین کیناز C، پروتئین فعال شونده میتوزن و افزایش بیان NFkB و فیبروز می‌شود (۱۸). بنابراین فریتین در فرآیند مرتبط با پاتوزن NASH از جمله التهاب، آپتوز و استرس اکسیداتیو نقش دارد (۸). لذا با توجه به نقش فریتین به نظر می‌رسد که نسبت Ferritin/ALT همچنان که در مطالعه

اوزاوا نیز ذکر شده است یک نشانگر سریع و ساده برای تشخیص آسیب‌های حاد کبدی است (۱۹). مطالعات در افراد سالم حاکی از نقش پیشگویی‌کننده نسبت ALT/AST سرم در بیماری NAFLD است (۱۲). وسترباکا و همکاران در مطالعه خود بر روی ۳۲ فرد غیر دیابتی ارتباط مثبت معنی‌دار سطوح ALT و AST سرم را با میزان چربی کبد اندازه‌گیری شده با روش پروتون اسپکتروسکوپی نشان داد (۲۰). در مطالعه پریس و ستار در بیماری NAFLD افزایش سطوح ALT و نسبت ALT/AST کمتر از ۱ گزارش شده است (۲۱). در مطالعه حاضر نیز نسبت ALT/AST کمتر از ۲ و مساوی یا بیشتر از ۲ با شدت تجمع چربی (شدت اکوژنیسیته) رابطه معنی‌دار را نشان داد که همسو با پاره‌ای از مطالعات است. برای مثال مطالعه‌ای بر روی ۱۰۵ بیمار با سطح بالای آنزیم‌های کبدی درجه اکوژنیسیته کبدی با سطوح ALT و AST ارتباط مثبت معنی‌دار نشان داد. در این مطالعه ALT نه تنها با شدت تجمع چربی در کبد ارتباط داشت بلکه همراهی افزایش ALT با شدت تجمع چربی احشایی، حاکی از نقش چربی احشایی به عنوان پیشگویی‌کننده سطوح بالاتر این آنزیم در NAFLD می‌باشد (۱۳).

در مجموع یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از ارتباط بین سطوح فریتین و شدت بیماری کبد چرب در بیماران مورد مطالعه بوده و نسبت بالای آنزیم‌های کبدی احتمالاً عامل پیشگویی‌کننده در شدت کبد چرب می‌باشد. لذا انجام مطالعات بر روی نمونه‌های بیشتر و با روش‌های دقیق‌تر همچون بیوپسی و MRI پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر استنتاج شده از داده‌های پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد و طرح پژوهشی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز نگارش گردیده است. لذا بدین وسیله از حمایت‌های مادی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تقدیر می‌گردد.

References

1. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *AM J Physio Endocrinol Metab.*2005; 288:462-468.
2. Ong JP, Younossi ZM. Approach to the diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis.*2005; 9: 617-634.
3. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R. NAFLD and hyperinsulinemia are major determinantsof serum ferritin levels. *Journal of Hepatology.*2007; 46: 700-707.
4. Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, Watkins J, Xirouchakis E, Pleguezuelo M, et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver International.*2011; 734-739.
5. Halem Helaly MA, Zaki Hatata ES, Abdel-Khalek ES, Abdel Aal IA. Elevated Levels of Serum Ferritin May be Related to Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Eur J Basic Med Sci.* 2011; 1(1):13-20.
6. Sumida Y, Yoshikawa T, Kanoue T. Role of hepatic iron in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology Research.*2009; 39: 213-222.
7. Chandok N, Minuk G, Wengiel M, Uhanova J. Serum Ferritin Levels Do not Predict the Stage of Underlying Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2012 ; 21(1):53-58.
8. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, et al. Serum Ferritin Is an Independent Predictor of Histologic Severity and Advanced Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.*2012; 55(1):77-85.
9. Bogdanova K, Pocztakova H, Uherkova L, Riegrova D, Rypka M, Feher j, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)-A novel common aspect of the metabolic syndrome. *Biomed pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006; 150(1):101-104.
10. Choi KM, Lee KW, Kim HY, Seo JA, Kim SG, Kim NH, et al. Association among serum ferritin, alanine aminotransferase levels, and metabolic syndrome in Korean postmenopausal women. *Metabolism Clinical and Experimental.*2005; 54: 1510-1514.
11. Chang Y, Ryu S, Sung E, Jang Y. Higher Concentrations of AlanineAminotransferase within the Reference Interval Predict Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinical Chemistry.*2007;53(4):686-692.
12. Moradhaseli F, Ansari A, Zahedi MJ, Hayatbakhsh Abasi M, Ahmadi J, Darvishmogadam S. Association between mezantric fat concentration with fat accumulation severity in NAFLD. *Jonob Teb.* 2010; 13(3):180-189. (In Persian)
13. Khosravi S, Alavian SM, Zare A, Ebrahimi Daryani N, Fereshtehnejad SM, Ebrahimi Daryan N, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and correlation of serum alanin aminotransferase level with histopathologic finding. *Hepat Mon.*2011; 11(6):452-458.

14. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*.1999; 30: 1356-1362.
15. Lonardo A, Loria P, Leonardi F, Borsatti A, Neri P, Pulvirenti M, et al. Fasting insulin and uric acid levels but not indices of iron metabolism are independent predictors of non-alcoholic fatty liver disease. A case control study. *Dig Liver Dis*. 2002; 34: 204-211.
16. Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, Matteoni CA, Boparain N, O'NEILL R. Hepatic Iron and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*.1999; 30(40): 847-850.
17. Malaguarnera L, Madeddu R, Palio E, Arena N, Malaguarnera M. Heme oxygenase-1 levels and oxidative stress-related parameters in non-alcoholic fatty liver disease patients. *J Hepatol*. 2005; 42:585-591.
18. Ruddell RG, Hoang-Le D, Barwood JM, Rutherford PS, Piva TJ, Watters DJ, et al. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C zeta/nuclear factor kappaB regulated signaling in rat hepatic stellate cells. *Hepatology*.2009; 49:887-900.
19. Ozawa E, Abiru S, Nagaoka SH, Yano K, Komori A, Migita K, et al. Ferritin/alanine aminotransferase ratio as a possible marker for predicting the prognosis of acute liver injury. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*.2011; 26: 1326-1332.
20. Westerbacka J, Cornér A, Tiikkainen M, Tamminen M, Vehkavaara S, Häkkinen AM. Women and men have similar amounts of liver and intra-abdominal fat, despite more subcutaneous fat in women: implications for sex differences in markers of cardiovascular risk. *Diabetologia*.2004; 41:1360-1369.
21. Preiss D, Sattar N. Non-alcoholic fatty liver disease: an overview of prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment considerations. *Clinical Science*. 2008; 115:141-150.