

مقایسه روش‌های غیر تهاجمی در ارزیابی اثرات توأم مکمل دانه بزرک و رژیم شبه روزه داری بر فیبروز کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی: یک مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی شده

نویده خدادادی^۱، امیر صادقی^۲، حسین پوستچی^۳، بهنود عباسی^۴، مریم نیلقاز^۱، آریتا حکمت دوست^۵

- ۱- گروه تغذیه بالینی و رژیم غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های دستگاه گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۴- گروه تغذیه، مرکز تحقیقات پایش آمار و سلامت الکترونیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۵- نویسنده مسئول: استاد گروه تغذیه بالینی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: a-hekmat2000@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۹

چکیده

سابقه و هدف: بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) (Nonalcoholic fatty liver disease) به عنوان یک بیماری مزمن شناخته شده که شیوع آن در سراسر جهان در حال افزایش بوده و در صورت عدم درمان می‌تواند به سیروز و فیبروز کبدی منجر شود. استاندارد طلایی به منظور تشخیص NAFLD و نیز تعیین میزان فیبروز کبدی بیوپسی کبد می‌باشد ولی به عنوان یک روش تهاجمی تلقی شده که می‌تواند منجر به عوارض جانبی احتمالی گردد. بنابراین، استفاده از برخی از روش‌های غیر تهاجمی پیشنهاد می‌شود. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر مداخله رژیم شبه روزه داری و مکمل دانه بزرک در مقایسه با گروه کنترل بر فیبروز کبدی از طریق پانل نشانگر غیرتهاجمی و فیبرواسکن در بیماران مبتلا به NAFLD بود.

مواد و روش‌ها: تغییرات فیبروز کبدی در پنجاه بیمار مبتلا به NAFLD تحت تأثیر رژیم شبه روزه داری به همراه مصرف ۳۰ گرم روزانه از مکمل دانه بزرک و نیز گروه کنترل تحت یک کارآزمایی بالینی تصادفی شده به مدت ۱۲ هفته بررسی شد. در ابتدا و انتها قد و وزن شرکت کنندگان اندازه‌گیری شد. شاخص توده بدنی (BMI) (Body Mass Index)، پرسشنامه فعالیت بدنی (فعالیت جسمی با استفاده از پرسشنامه بین‌المللی IPAQ) و یاد آمد ۲۴ ساعته از بیماران در ابتدا و انتها تکمیل شد. روش‌های ارزیابی فیبروز کبدی که در ابتدا و انتهای مطالعه استفاده شد شامل فیبرواسکن و محاسبه پانل نشانگر غیرتهاجمی شامل Fibrosis4 (FIB-4)، AST Aspartate aminotransferase Platelet Ratio Index (APRI) و Body mass index، AST/ALT Alanine aminotransferase ratio، Diabetes (BARD) بود.

یافته‌ها: در نهایت ۴۵ نفر بیمار مبتلا به NAFLD با میانگین سن ۴۶/۸۳ سال و میانگین BMI برابر با ۳۲/۷۹ کیلوگرم بر متر مربع وارد آنالیز شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که پس از رعایت رژیم شبه روزه داری و مصرف دانه بزرک در مقایسه با گروه کنترل تغییرات آماری معنی‌داری بر روی فاکتورهای مرتبط با فیبروز کبدی شامل فیبرواسکن ($P=0/507$)، BARD ($P=0/396$)، FIB-4 ($P=0/984$) و APRI ($P=0/682$) بعد از ۱۲ هفته مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که نتایج فیبرواسکن و شاخص‌های BARD، FIB-4 و APRI در ارزیابی تغییرات فیبروز کبدی پس از مداخله ی صورت گرفته مشابه بود. مطالعات آتی با حجم نمونه بالاتر برای تأیید این نتایج مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: رژیم شبه روزه داری، دانه بزرک، فیبروز کبدی، بیماری کبد چرب غیر الکلی

• مقدمه

(۱). طی ۲۰ سال آینده، انتظار می‌رود که NAFLD عامل مهم عوارض و نیز مرگ و میر مرتبط با کبد و همچنین علت اصلی

در سراسر جهان بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) (Nonalcoholic fatty liver disease) با میزان شیوع حدود ۲۵٪ به عنوان شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی شناخته می‌شود

از سوی دیگر، ترکیبات غذایی متعددی برای پیشگیری یا درمان NAFLD و عوارض آن آزمایش و پیشنهاد شده‌اند (۱۳). بزرک با نام لاتین *Linum usitatissimum* به دلیل ویژگی‌های تغذیه‌ای یک غذای سودمند بوده (۱۴) و طبق مطالعات حیوانی قبلی، روغن بزرک می‌تواند تجمع چربی کبدی را از طریق سرکوب ژن‌های گلیکولیتیک و لیپوژنیک کبد بهبود دهد (۱۷-۱۵) و نیز بتا اکسیداسیون را از طریق ژن‌های تنظیم کننده کبدی تحریک کند (۱۹، ۱۸) که این عمل بزرک می‌تواند حساسیت به انسولین را نیز بهبود بخشد (۱۷). همچنین به دلیل محتوای بالای فیبر و سایر اجزای آن همانند لیگنان‌های فیتواستروژنیک، پروتئین با ضریب هضم بالا و انواع آنتی اکسیدان‌ها و فیتواستروژن‌ها می‌تواند ترکیبی مؤثر در مدیریت و درمان NAFLD باشد (۲۰).

اگرچه بیوپسی کبد استاندارد طلایی برای ارزیابی فیبروز کبدی است، اما به دلیل ماهیت تهاجمی و عوارض جانبی احتمالی، نمی‌توان از آن به عنوان یک ابزار غربالگری به طور معمول استفاده کرد (۲۱). استراتژی‌های غیر تهاجمی به منظور ارزیابی درجه‌ی فیبروز در بیماران مبتلا به NAFLD، ساده و مقرون به صرفه است (۲۲) و در دهه گذشته، تلاش‌های عمده‌ای برای شناسایی روش‌های غیرتهاجمی برای ارزیابی فیبروز کبدی در بیماری‌های مختلف مزمن کبدی از جمله NAFLD انجام شده است. چندین روش غیر تهاجمی شامل نشانگرهای سرمی، الاستوگرافی گذرا (یعنی اندازه‌گیری سفتی کبد) و انجام مجدد تکنیک‌های تصویربرداری کلاسیک به عنوان جایگزینی برای آنالیز هیستوپاتولوژیک کبد یا استفاده در ترکیب با بیوپسی کبد پیشنهاد شده است (۲۳). با توجه به توصیه کمیسیون Lancet (۲۴) مبنی بر استفاده از این ابزارهای ارزیابی خطر و فقدان مطالعات انسانی در این زمینه، این مطالعه با هدف بررسی اثر توأم رژیم شبه روزه داری و مکمل دانه بزرک در مقایسه با گروه کنترل بر فیبروز کبدی از طریق پانل نشانگر غیر تهاجمی و فیبرواسکن در بیماران مبتلا به NAFLD انجام شد.

• مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

این کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده از مارس ۲۰۲۳ تا ژوئن ۲۰۲۳ و با تأیید کمیته اخلاق انیستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (IR.SBMU.NNFTRI.REC.1401.070) و ثبت در کارآزمایی بالینی ایران و با کد IRCT20100524004010N36 انجام شد.

پیوند کبد باشد (۲). در ایران نیز شیوع NAFLD حدود ۳۷/۸ درصد تخمین زده شده است (۳).

NAFLD یک طیف پاتولوژیک وسیعی بوده که از استئاتوز ساده تا استئاتوهپاتیت غیر الکلی (Nonalcoholic steatohepatitis) با درجات متغیر فیبروز و سیروز را در بر می‌گیرد (۴) و ممکن است به نارسایی کبد و سرطان کبد منجر گردد (۲). به طور کلی، تجمع چربی در کبد از عدم تعادل بین جذب چربی توسط کبد، اکسیداسیون، انتقال لیپیدها از کبد و لیپوژنز دنوو ناشی می‌شود (۵) که اولین مرحله‌ی آسیب در NAFLD در نظر گرفته می‌شود که کبد را مستعد آسیب ناشی از مراحل بعدی می‌کند، مانند سیتوکین‌های التهابی / آدیپوکین‌ها، اختلال عملکرد میتوکندری، و استرس اکسیداتیو، که منجر به NASH و فیبروز می‌شود (۵، ۳). نرخ پیشرفت فیبروز سالانه ۰/۰۷ مرحله برای کبد چرب غیر الکلی (NAFL Nonalcoholic Fatty Liver) و ۰/۱۴ مرحله برای بیماران مبتلا به NASH می‌باشد (۶).

به طور گسترده برای NAFLD چندین درمان دارویی بالقوه از دهه‌های گذشته مورد بررسی قرار گرفته اند، از جمله داروهای کاهش دهنده گلوکز، آنتی اکسیدان‌ها، استاتین‌ها و سایر درمان‌های کاهش دهنده چربی، داروهای ضد فشار خون و دیگر عوامل احتمالی، اگرچه تاکنون درمان دارویی قطعی برای NAFLD پیدا نشده است (۷). اما اصلاح سبک زندگی می‌تواند در درمان بیماران NAFLD مؤثر باشد (۸) و مطالعات در حال حاضر نشان می‌دهند که کاهش وزن بهترین روش درمانی برای NAFLD بوده و ترکیب رژیم غذایی و ورزش اساس دستیابی و حفظ این هدف می‌باشند (۹).

در طی سال‌های اخیر مطالعات نشان داده‌اند که علاوه بر مقدار کالری و ترکیب رژیم، زمان مصرف غذا نیز برای پیشگیری از چاقی و عوارض آن اهمیت دارد (۱۱، ۱۰). در طی دهه‌ی گذشته انواع رژیم‌های روزه داری مطرح شده اند و تغذیه با محدودیت زمانی (Time Restricted Feeding) TRF شکلی از روزه داری متناوب بوده که فرصت‌های زمانی خاصی را برای مصرف غذا در طول روز فراهم می‌کند (۱۲). محبوب ترین نوع TRF مدل ۱۶:۸ بوده که شامل یک دوره ۸ ساعته برای دریافت غذا و به دنبال آن یک دوره ۱۶ ساعته ناشتایی می‌باشد (۱۲). ویژگی کلیدی همه این رژیم‌ها اصطلاح «سوئیچ متابولیک» بوده که به تغییر ترجیحی بدن به استفاده از اسیدهای چرب و کتون‌های مشتق از آن‌ها اشاره دارد و پیامدهای آن شامل کاهش وزن، کاهش مقاومت به انسولین و سطوح پایین‌تر گلوکز خون همراه با کاهش لپتین در گردش، افزایش سطح آدیپونکتین می‌باشد (۹).

گوارشی از قبیل نفخ دوز ۳۰ گرم را به ۳ دوز ۱۰ گرم تقسیم کرده و با معده ی پر مصرف نمایند. پیگیری بیماران، به منظور کنترل پیروی آن ها از رژیم غذایی، هر هفته از طریق تماس تلفنی و هر ماه به صورت مصاحبه و اخذ سه یاد آمد صورت گرفت (۱ روز تعطیل و ۲ روز کاری) و بیمارانی که رژیم را رعایت نکردند از مطالعه کنار گذاشته شدند و همچنین با درخواست از شرکت کنندگان برای بازگرداندن بزرگ استفاده نشده که در هر بازدید وزن شده، ارزیابی گردید. به طوری که باقی مانده ی بیش از ۱۰٪ از وزن ابتدایی دانه ی بزرگ آسیاب شده نشان دهنده ی عدم پیروی بود. قد و وزن شرکت کنندگان به ترتیب با دقت ۰/۵ سانتی متر و ۱۰۰ گرم اندازه گیری شد. اندازه گیری ها در حالت ایستاده، با حداقل لباس و بدون کفش در ابتدا و در هفته دوازدهم انجام شد. دور کمر با متر و با دقت ۰/۵ سانتی متر اندازه گیری شد که بدین منظور باریک ترین قسمت بین آخرین دنده و استخوان ایلایک اندازه گیری گردید. BMI به صورت وزن (کیلوگرم) تقسیم بر مجذور قد (m^2) محاسبه شد. میزان فعالیت بدنی در ابتدا و انتهای مطالعه با استفاده از پرسشنامه بین المللی فعالیت بدنی (IPAQ) به زبان فارسی ارزیابی شد. مقدار فعالیت بدنی با در نظر گرفتن ضرایب مربوط به فعالیت انجام شده به صورت داده های پیوسته کوچک محاسبه شده و به صورت $Met-min/week$ (Metabolic equivalent of task) ثبت گردید. ضریب Met برای پیاده روی ۳/۳، برای فعالیت متوسط ۴، برای فعالیت سنگین ۸ بود که در مدت زمان فعالیت بر حسب دقیقه و تعداد روزهای هفته ضرب شد و مجموع آن به عنوان میزان فعالیت بدنی در هفته در نظر گرفته شد (۲۷). همچنین در ابتدا و انتهای مطالعه یاد آمد ۲۴ ساعته از بیماران تکمیل شد. داده های غذایی جمع آوری شده توسط نرم افزار Nutritionist IV (First Data Bank, San Bruno, CA, USA) اصلاح شده برای غذاهای ایرانی توسط متخصص تغذیه تجزیه و تحلیل شد. متغیرهای مرتبط با دریافت های غذایی به صورت Energy-adjusted گزارش گردید. مدت زمان تقریبی انجام مطالعه ۱۲ هفته بود.

شاخص های اندازه گیری شده

در ابتدا و انتهای مطالعه، فیبروز کبدی با استفاده از فیبرواسکن و محاسبه پانل نشانگر غیرتهاجمی شامل AST (Aspartate), APRI, FIB-4 (Fibrosis4), aminotransferase Platelet Ratio Index (BARD) و Body mass index, AST/ALT Alanine aminotransferase ratio, Diabetes) ارزیابی شد.

بر اساس مطالعه ی اسلام پرست و همکاران (۲۵)، حجم نمونه برابر با ۵۰ بیمار برآورد شد که از میان بیماران مبتلا به NAFLD که به کلینیک های گوارش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند (۲۶). لازم به ذکر است که ۳ شرکت کننده در گروه مداخله و ۲ نفر در گروه کنترل به دلیل عدم تمایل به ادامه از مطالعه خارج شدند.

NAFLD توسط یک پزشک متخصص با استفاده از فیبرواسکن و تست های آزمایشگاهی تأیید شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: سن بالای ۱۸ سال با شواهد NAFLD در فیبرواسکن ($CAP > 263$) (گرید دو و بالاتر) بود که سابقه مصرف الکل نداشتند. عدم سابقه بیماری هایی مانند بدخیمی ها، بیماری های کبدی نظیر هپاتیت و سیروز، اختلالات صفراوی، عدم مصرف داروهایی مانند ویتامین E، اسید اورسودوکسی کولیک، فنی توئین، تاموکسیفن، لیتيوم، کورتیکواستروئیدها و متوترکسات در سه ماه گذشته؛ عدم سابقه کاهش وزن یا جراحی چاقی در سال های اخیر و نیز نداشتن سابقه کم کاری تیروئید و دیابت کنترل نشده بود و معیارهای خروج از این مطالعه نیز بارداری، عدم تحمل مکمل و رژیم و عوارض جانبی غیرمنتظره بود.

پس از اخذ رضایت آگاهانه کتبی، با توجه به روش تصادفی سازی ساده بر اساس جدول اعداد تصادفی و حجم نمونه بیماران به دو گروه مداخله ($n=25$) و کنترل ($n=25$) تقسیم شدند. بیماران گروه دانه بزرگ و رژیم شبه روزه داری ۱۶:۸ در طول شبانه روز ۱۶ ساعت در حالت ناشتا که تنها مجاز به مصرف آب و چای و مواد غذایی بدون کالری و ۸ ساعت نیز مجاز به مصرف مواد غذایی بودند. همچنین در طی این ۸ ساعت روزانه ۳۰ گرم پودر دانه بزرگ نیز استفاده می کردند. به همه ی بیماران توصیه های لازم جهت تنظیم دریافت کالری بر اساس سن، جنس، شاخص توده بدنی ($Body Mass Index$) BMI و تنظیم توزیع درشت مغذی ها بر اساس (کربوهیدرات: ۵۰٪، پروتئین ۲۰٪ و چربی ۳۰٪) در روز انجام شد (۲۵).

در ابتدا محققین در مورد ماهیت بیماری و عوامل مؤثر، پیشرفت و پیش آگهی، عوارض و اهمیت درمان و پیگیری توضیحاتی ارائه دادند.

همچنین به بیماران گروه مداخله مقدار مصرف ۴ هفته ای دانه بزرگ ارائه شد (روزانه ۳۰ گرم). در هر ویزیت بعدی، مکمل کافی برای بیماران فراهم شد. در شروع مطالعه توضیحات لازم در مورد رعایت رژیم به افراد داده شد. به شرکت کنندگان توصیه شد که دانه بزرگ را در یخچال نگهداری کرده، پودر آن را به آب اضافه کرده و بنوشند و در صورت بروز مشکلات

تحلیل آماری

در این مطالعه، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طریق نرم-افزار SPSS نسخه ۲۲ صورت گرفت. جهت تعیین تبعیت داده‌ها از توزیع نرمال، از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار برای متغیرهای کمی یا عدد (%) برای متغیرهای کیفی بیان شدند. مقایسه درون گروهی با استفاده از آزمون تی زوجی و مقایسه بین گروهی با استفاده از آزمون تی مستقل انجام شد. متغیرهای طبقه‌بندی با استفاده از آزمون دقیق فیشر مقایسه شدند. به منظور بررسی تأثیر عوامل مخدوش کننده بر پیامدهای مورد بررسی از آزمون ANCOVA استفاده گردید. مقدار $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در تمام آنالیزها در نظر گرفته شد. همچنین به منظور تعیین مخدوشگرهای احتمالی از دو رویکرد آماری و مفهومی استفاده گردید که رویکرد آماری بر اساس $P \text{ value} < 0.05$ در ابتدای مطالعه و رویکرد مفهومی بر اساس مطالعات قبلی و بررسی متون استفاده گردید و در نهایت سطح ابتدایی متغیرهای مورد سنجش، BMI، دور کمر WC (Waist Circumference)، انرژی دریافتی و میزان فعالیت بدنی به عنوان عوامل مخدوش کننده متابولیک در نظر گرفته شدند (۲۸).

• یافته‌ها

۴۵ نفر (۲۴ نفر در گروه ترکیب رژیم و مکمل، ۲۱ نفر در گروه کنترل) مطالعه را تکمیل کردند. در گروه مداخله ۳ ریزش و ۲ ریزش در گروه کنترل وجود داشت که همه آن‌ها به دلیل عدم تمایل به ادامه مداخله بود. مشخصات اولیه شرکت کنندگان در مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. یافته‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مداخله و کنترل در مورد متغیرهای مورد بررسی در ابتدای مطالعه وجود نداشت. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، BMI، WC، انرژی دریافتی و میزان فعالیت بدنی به عنوان عوامل مخدوش کننده متابولیک در نظر گرفته شدند. شاخص توده ی بدنی و دور کمر در هر دو گروه در طول مطالعه به طور معنی‌داری کاهش یافت، اگرچه تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. علاوه بر این، فعالیت بدنی در گروه مداخله در طول مطالعه افزایش یافت که از نظر آماری معنی‌دار بود، فعالیت بدنی در گروه کنترل نیز در طول مطالعه افزایش یافت چراکه به همه شرکت کنندگان توصیه شد فعالیت بدنی را افزایش دهند ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. با این حال تفاوت بین دو گروه در فعالیت بدنی از نظر آماری معنی‌داری بود. دریافت انرژی در هر دو گروه مداخله در طول مطالعه کاهش یافت که از نظر آماری معنی‌دار بود، ولی این کاهش در گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین تفاوت بین دو گروه در میزان دریافت انرژی از نظر آماری معنی‌داری نبود.

جدول ۱. اطلاعات دموگرافی، تن سنجی و امتیازات کبدی بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی در ابتدای مطالعه

مشخصات اولیه	گروه مداخله (n=۲۴)	گروه کنترل (n=۲۱)	P-value* سطح معنی‌داری
سن (سال)	۱۱/۸۰ $\pm$ ۴۸/۳۳	۱۱/۴۷ $\pm$ ۴۵/۳۳	۰/۳۹۴
جنسیت (مرد/زن)	۹/۱۵	۱۲/۹	۰/۱۸۸
قد (سانتی متر)	۱۱/۶۳ $\pm$ ۱۶۹/۹۴	۱۱/۹۰ $\pm$ ۱۶۶/۱۰	۰/۲۸۰
وزن (کیلوگرم)	۱۷/۶۵ $\pm$ ۹۶/۳۵	۱۳/۳۱ $\pm$ ۸۸/۳۴	۰/۰۹۷
نمایه ی توده ی بدنی (کیلوگرم/مترمربع)	۵/۱۷ $\pm$ ۳۳/۳۹	۵/۲۲ $\pm$ ۳۲/۱۹	۰/۴۴۷
دور کمر (سانتی متر)	۸/۶۲ $\pm$ ۱۰۶/۵۸	۸/۵۵ $\pm$ ۱۰۱/۴۳	۰/۰۵۱
فیبرواسکن (کیلوپاسکال)	۲/۲۵ $\pm$ ۶/۵۶	۲/۲۲ $\pm$ ۶/۳۱	۰/۷۱۸
FIB4	۰/۷۲ $\pm$ ۱/۰۴	۰/۳۰ $\pm$ ۰/۸۶	۰/۳۴۲
APRI	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۳۰	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۲۴	۰/۱۸۴
BARD	۱/۰۶ $\pm$ ۲/۲۱	۱/۰۰ $\pm$ ۱/۵۹	۰/۰۶۷

تمام داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده اند.

APRI(AST Aspartate aminotransferase Platelet Ratio Index), FIB-4(Fibrosis4), BARD (body mass index, AST/ALT Alanine aminotransferase ratio, Diabetes)

جدول ۲. مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار عوامل مخدوش کننده متابولیک قبل و بعد از مداخله

سطح معناداری		گروه کنترل (n=۲۱)		گروه مداخله (n=۲۴)			
P-value*	P-value**	انتهای مداخله	ابتدای مداخله	P-value**	انتهای مداخله	ابتدای مداخله	
۰/۹۴۵	۰/۰۰۲	۶/۳۸ $\pm$ ۳۱/۱۸	۵/۲۲ $\pm$ ۳۲/۱۹	<۰/۰۰۱	۴/۸۶ $\pm$ ۳۱/۰۶	۵/۱۷ $\pm$ ۳۲/۳۹	نمایه ی توده ی بدنی (کیلوگرم/مترمربع)
۰/۰۰۱***	۰/۰۵۵	۵۷۳/۶۸ $\pm$ ۱۹۰۳/۱۲	۵۳۵/۷۸ $\pm$ ۲۲۸۴/۰۰	۰/۰۰۱	۱۵۴/۹۳ $\pm$ ۱۴۳۵/۳۸	۳۸۳/۰۴ $\pm$ ۱۷۷۶/۸۳	دریافت انرژی (کیلوکالری/روز)
۰/۰۰۴***	۰/۱۶۳	۴/۵۸ $\pm$ ۳۴/۴۵	۵/۸۰ $\pm$ ۳۲/۸۳	۰/۰۰۶	۴/۵۶ $\pm$ ۳۸/۹۳	۶/۱۱ $\pm$ ۳۵/۲۲	میزان فعالیت بدنی برحسب MET (ساعت در روز)
۰/۷۸۵	۰/۰۳۹	۱۱/۷۴ $\pm$ ۹۸/۸۱	۸/۷۶ $\pm$ ۱۰۲/۱۹	<۰/۰۰۱	۹/۷۳ $\pm$ ۹۹/۷۷	۸/۰۰ $\pm$ ۱۰۷/۳۲	دور کمر (cm)

MET: Metabolic equivalent of task

تمام داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده اند.

*آزمون تی مستقل برای مقایسه بین گروهی

**آزمون تی زوج برای مقایسه ی درون گروهی

***P<۰/۰۵

به منظور حذف اثرات عوامل مخدوش کننده، چه در ابتدا و چه در حین مطالعه، از آزمون تحلیل کوواریانس استفاده شد. همه مدل های ANCOVA برای سطح اولیه هر متغیر و میانگین تغییرات در BMI، WC، MET و انرژی تعدیل شدند. در پایان مطالعه، پس از تعدیل BMI، MET، WC و دریافت انرژی، هیچ بهبود قابل توجهی در شاخص های فیبروز شامل فیبرواسکن (p=۰/۵۰۷)، BARD (P=۰/۳۹۶)، FIB-4 (p=۰/۹۸۴) و APRI (p=۰/۶۸۲) بین گروه ها مشاهده نشد (جدول ۴).

همان طور که در جدول ۳ نشان داده شده است، مصرف دانه بزرک به همراه رژیم شبه روزه داری نمره ی فیبروز را بر اساس تست BARD در گروه مداخله در طی ۱۲ هفته کاهش داد (p<۰/۰۵)، ولی این کاهش در گروه کنترل از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین درجه ی فیبروز در بیماران در هر دو گروه در طی مداخله با استفاده از فیبرواسکن، APRI و FIB-4 کاهش معنی داری نشان نداد (p>۰/۰۵). همچنین در مقایسه این شاخص ها بین دو گروه تفاوت معنی داری دیده نشد و تنها تفاوت معنی دار در BARD نشان داده شد.

جدول ۳. مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار نمرات فیبروز کبدی قبل و بعد از مداخله

سطح معناداری		گروه کنترل (n=۲۱)		گروه مداخله (n=۲۴)			امتیاز فیبروز کبدی
*P-value	P-value**	انتهای مداخله	ابتدای مداخله	P-value**	انتهای مداخله	ابتدای مداخله	
۰/۸۷۷	۰/۰۷۳	۱/۸۵ $\pm$ ۶/۰۶	۲/۲۲ $\pm$ ۶/۳۱	۰/۳۷۳	۲/۵۵ $\pm$ ۶/۱۸	۲/۲۵ $\pm$ ۶/۵۶	فیبرواسکن
۰/۱۴۷	۰/۵۲۱	۰/۲۴ $\pm$ ۰/۸۰	۰/۳۰ $\pm$ ۰/۸۶	۰/۸۸۲	۰/۵۸ $\pm$ ۱/۰۴	۰/۷۲ $\pm$ ۱/۰۴	FIB4
۰/۲۰۵	۰/۰۷۲	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۲۴	۰/۳۸۰	۰/۱۵ $\pm$ ۰/۲۵	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۳۰	APRI
۰/۰۱۸***	۰/۰۸۲	۰/۹۱ $\pm$ ۱/۱۳	۱/۰۰ $\pm$ ۱/۵۹	۰/۰۲۲	۱/۱۴ $\pm$ ۲/۰۰	۱/۰۶ $\pm$ ۲/۲۱	BARD

تمام داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده اند.

*آزمون تی مستقل برای مقایسه بین گروهی ، **آزمون تی زوج برای مقایسه ی درون گروهی ، ***P<۰/۰۵

APRI: AST Aspartate aminotransferase Platelet Ratio Index, FIB-4: Fibrosis4, BARD: Body mass index, AST/ALT Alanine aminotransferase ratio, Diabetes.

جدول ۴. میانگین تغییرات (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در انتهایی مطالعه نسبت به ابتدای مطالعه در امتیاز فیبروز کبدی در گروه مداخله و کنترل

تغییرات امتیاز فیبروز کبدی نسبت به ابتدا	گروه مداخله (n=۲۴)	گروه کنترل (n=۲۱)	سطح معنی داری *P-value
فیبرواسکن	۲/۹۴ $\pm$ ۰/۵۸	۱/۱۵ $\pm$ ۰/۵۵	۰/۵۰۷
FIB4	۰/۳۶ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۲۴ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۹۸۴
APRI	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۶۸۲
BARD	۰/۴۱ $\pm$ ۰/۲	۱/۲۴ $\pm$ ۰/۶	۰/۳۹۶

تمام داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده اند.

* سطح P-value برای تفاوت های بین گروهی با استفاده از تجزیه و تحلیل کوواریانس با در نظر گرفتن مقادیر اولیه، BMI، WC، MET و انرژی به عنوان متغیرهای مخدوشگر

APRI: AST Aspartate aminotransferase Platelet Ratio Index, FIB-4: Fibrosis4, BARD: Body mass index, AST/ALT Alanine aminotransferase ratio, Diabetes.

• بحث

طبق مطالعات حیوانی قبلی، روغن بزرک غنی از امگا ۳ بوده و می‌تواند تجمع چربی کبدی را از طریق سرکوب ژن‌های گلیکولیتیک و لیپوژنیک کبد بهبود بخشد. علاوه بر این، بتا اکسیداسیون را از طریق ژن‌های تنظیم‌کننده کبدی از جمله گیرنده فعال‌شده با تکثیر پراکسی‌زوم (PPAR) آلفا یا گاما و عنصر تنظیم‌کننده استرول پروتئین ۱-c (SREBP-1c) را تحریک می‌کند و طبق مطالعه ی یاری و همکاران مکمل دانه بزرک می‌تواند فیروز کبدی را بهبود بخشد، که این اثر ممکن است به دلیل محتوای بالای امگا ۳ دانه بزرک باشد که می‌تواند در فسفولیپیدهای غشای سلولی قرار گیرد (۱۳). در طی سال‌های اخیر مطالعات نشان داده اند که استفاده از انواع رژیم‌های روزه داری موجب کاهش وزن، کاهش مقاومت به انسولین و سطوح پایین‌تر گلوکز خون می‌شود و نیز موجب کاهش بیان ژن‌های التهابی و افزایش بیان ژن‌های ضد التهابی می‌گردد (۳۶، ۹). طبق مطالعه کرد و همکاران پیروی از رژیم شبه روزه داری ۱۶:۸ موجب بهبود امتیاز فیروز کبدی می‌شود (۳۷).

با در نظر گرفتن فیروزاسکن به عنوان یک روش استاندارد ارزیابی فیروز، نتایج این مطالعه تأیید کرد که BARD، FIB-4 و APRI می‌توانند برای ارزیابی فیروز استفاده شوند به خصوص در زمانی که فیروزاسکن در محیط بالینی مقرون به صرفه نباشد. محدودیت اصلی مطالعه حاضر این بود که به دلیل مسائل اخلاقی، انجام بیوپسی کبد به عنوان استاندارد طلایی برای مقایسه با سایر ابزارهای غربالگری غیرتهاجمی امکان پذیر نبود. علاوه بر این، با توجه به حجم کم شرکت کنندگان، نیاز به مطالعات بیشتر با حجم نمونه بزرگتر وجود دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نتایج فیروزاسکن و شاخص های BARD، FIB-4 و APRI در ارزیابی تغییرات فیروز کبدی پس از مداخله ی صورت گرفته مشابه بود. مطالعات آتی با حجم نمونه بالاتر برای تأیید این نتایج مورد نیاز است.

در این مطالعه، از آزمون‌های امتیازدهی مختلف پیشنهادی برای ارزیابی فیروز کبدی شامل پانل نشانگر غیرتهاجمی مانند FIB-4 (۲۹)، BARD (۳۰)، APRI (۳۱) و همچنین فیروزاسکن (۳۲، ۳۳) استفاده شد. اگرچه بیوپسی کبد استاندارد طلایی برای ارزیابی فیروز کبدی است، اما به دلیل ماهیت تهاجمی و عوارض جانبی احتمالی، نمی‌توان از آن به عنوان یک ابزار غربالگری به طور معمول استفاده کرد (۲۱). بنابراین، این روش‌های غیرتهاجمی نه تنها برای ارزیابی پیشرفت بیماری، بلکه برای نظارت بر میزان پاسخ به عوامل ضد فیروتیک نیز پیشنهاد شده‌اند (۳۴). مطالعات متعددی وجود دارد که پایایی و اعتبار تست فیروزاسکن را برای ارزیابی فیروز کبدی نشان داده اند. با این حال، هزینه آن برای بسیاری از بیماران مقرون به صرفه نیست. بنابراین، در این مطالعه نتایج سایر روش‌های غیر تهاجمی با فیروزاسکن، به عنوان یک روش غیرتهاجمی معتبر شناخته شده مقایسه گردید. مطالعه حاضر نشان داد که پس از تعدیل مخدوشگرهای احتمالی، رژیم شبه روزه داری و بزرک در مقایسه با گروه کنترل به مدت ۱۲ هفته در بیماران مبتلا به کبدچرب غیرالکلی باعث بهبود در شاخص‌های فیروز کبدی شامل فیروزاسکن، FIB-4، BARD و APRI از نظر آماری نگردید. با توجه به دانش ما، این اولین مطالعه انسانی است که روش‌های غیرتهاجمی مختلف را با هدف ارزیابی اثر مداخله رژیم شبه روزه داری و مکمل دانه بزرک در مقایسه با گروه کنترل بر فیروز کبدی در بیماران مبتلا به NAFLD مقایسه می‌کند.

به طور خلاصه، تجمع چربی در کبد از عدم تعادل بین جذب چربی کبدی، اکسیداسیون، انتقال لیپیدها از کبد و لیپوژنز دنو ناشی می‌شود (۵). این اولین صدمه در NAFLD در نظر گرفته شده است که کبد را مستعد آسیب ناشی از صدمه‌های بعدی که منجر به NASH و فیروز شده، می‌کند (۳۵، ۵).

• References

- Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018;15(1):11-20.
- Gamil NMB, El Agaty SM, Megahed GK, Mansour RS, Abdel-Latif MS. Reversion to regular diet with alternate day fasting can cure grade-I non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in high-fructose-intake-associated metabolic syndrome. *Egyptian Liver Journal*. 2021;11(1):1-18.
- Salehisahlabadi A, Sadat S, Lotfi A, Mohseni M, Jadidi H. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in Iran: a population based study. *Middle East J Dig Dis*. 2010;2:14-9.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(16):1221-31.
- Mustonen A-M, Kärjä V, Kilpiö M, Tammi R, Tammi M, Rouvinen-Watt K, et al. Manifestations of fasting-induced fatty liver and rapid recovery from steatosis in voles fed lard or flaxseed oil lipids. *Nutrients*. 2013;5(10):4211-30.
- Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and fibrosis progression: the good, the bad, and the

- unknown. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015;13(4):655-7.
7. Mantovani A, Dalbeni A. Treatments for NAFLD: state of art. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(5):2350.
 8. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *Journal of hepatology*. 2017;67(4):829-46.
 9. Pugliese N, Plaz Torres MC, Petta S, Valenti L, Giannini EG, Aghemo A. Is there an 'ideal' diet for patients with NAFLD? *European Journal of Clinical Investigation*. 2022;52(3):e13659.
 10. Adlouni A, Ghalim N, Benslimane A, Lecerf JM, Saïle R. Fasting during Ramadan induces a marked increase in high-density lipoprotein cholesterol and decrease in low-density lipoprotein cholesterol. *Annals of nutrition and metabolism*. 1997;41(4):242-9.
 11. Weinstein DH, Twaddell WS, Raufman J-P, Philosophie B, Mindikoglu AL. SlimQuick™-associated hepatotoxicity in a woman with alpha-1 antitrypsin heterozygosity. *World Journal of Hepatology*. 2012;4(4):154.
 12. Cai H, Qin Y-L, Shi Z-Y, Chen J-H, Zeng M-J, Zhou W, et al. Effects of alternate-day fasting on body weight and dyslipidaemia in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised controlled trial. *BMC gastroenterology*. 2019;19:1-8.
 13. Yari Z, Cheraghpour M, Alavian SM, Hedayati M, Eini-Zinab H, Hekmatdoost A. The efficacy of flaxseed and hesperidin on non-alcoholic fatty liver disease: an open-labeled randomized controlled trial. *European journal of clinical nutrition*. 2021;75(1):99-111.
 14. Goyal A, Sharma V, Upadhyay N, Gill S, Sihag M. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *Journal of food science and technology*. 2014;51:1633-53.
 15. Dentin R, Benhamed F, Pégrier J-P, Fougelle F, Viollet B, Vaulont S, et al. Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(10):2843-54.
 16. Kelley DS, Vemuri M, Adkins Y, Gill SHS, Fedor D, Mackey BE. Flaxseed oil prevents trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid-induced insulin resistance in mice. *British Journal of Nutrition*. 2008;101(5):701-8.
 17. Xu J, Gao H, Song L, Yang W, Chen C, Deng Q, et al. Flaxseed oil and alpha-lipoic acid combination ameliorates hepatic oxidative stress and lipid accumulation in comparison to lard. *Lipids in health and disease*. 2013;12(1):1-7.
 18. Jump DB. N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Current opinion in lipidology*. 2008;19(3):242.
 19. Marx N, Duez H, Fruchart J-C, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circulation research*. 2004;94(9):1168-78.
 20. Rezaei S, Sasani MR, Akhlaghi M, Kohanmoo A. Flaxseed oil in the context of a weight loss programme ameliorates fatty liver grade in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised double-blind controlled trial. *British Journal of Nutrition*. 2020;123(9):994-1002.
 21. Sun W, Cui H, Li N, Wei Y, Lai S, Yang Y, et al. Comparison of FIB-4 index, NAFLD fibrosis score and BARD score for prediction of advanced fibrosis in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis study. *Hepatology Research*. 2016;46(9):862-70.
 22. Tapper EB, Sengupta N, Hunink MM, Afdhal NH, Lai M. Cost-effective evaluation of nonalcoholic fatty liver disease with NAFLD fibrosis score and vibration controlled transient elastography. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2015;110(9):1298-304.
 23. Vizzutti F, Arena U, Nobili V, Tarquini R, Trappoliere M, Laffi G, et al. Non-invasive assessment of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Annals of hepatology*. 2009;8(2):89-94.
 24. Williams R, Aspinall R, Bellis M, Camps-Walsh G, Cramp M, Dhawan A, et al. Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis. *The Lancet*. 2014;384(9958):1953-97.
 25. Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhan M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *The American journal of clinical nutrition*. 2014;99(3):535-42.
 26. Yari Z, Rahimlou M, Eslamparast T, Ebrahimi-Daryani N, Poustchi H, Hekmatdoost A. Flaxseed supplementation in non-alcoholic fatty liver disease: a pilot randomized, open labeled, controlled study. *International journal of food sciences and nutrition*. 2016;67(4):461-9.
 27. Hallal PC, Victora CG. Reliability and validity of the international physical activity questionnaire (IPAQ). *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(3):556.
 28. Saadati S, Hekmatdoost A, Hatami B, Mansour A, Zahra Z, Hedayati M, et al. Comparing different non-invasive methods in assessment of the effects of curcumin on hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2018;11(Suppl 1):S8-s13.
 29. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*. 2007;46(1):32-6.
 30. Alkhouri N, McCullough AJ. Noninvasive diagnosis of NASH and liver fibrosis within the spectrum of NAFLD. *Gastroenterology & hepatology*. 2012;8(10):661.
 31. Calès P, Lainé F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, et al. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *Journal of hepatology*. 2009;50(1):165-73.
 32. de Lédinghen V, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W, le Bail B. Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver international*. 2012;32(6):911-8.
 33. Yilmaz Y, Yesil A, Gerin F, Ergelen R, Akin H, Celikel ÇA, et al. Detection of hepatic steatosis using the

- controlled attenuation parameter: a comparative study with liver biopsy. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2014;49(5):611-6.
34. Vilar-Gomez E, Calzadilla-Bertot L, Friedman SL, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, Lazo-del Vallin S, et al. Serum biomarkers can predict a change in liver fibrosis 1 year after lifestyle intervention for biopsy-proven NASH. *Liver International*. 2017;37(12):1887-96.
35. Fan JG, Li F, Cai XB, Peng YD, Ao QH, Gao Y. Effects of nonalcoholic fatty liver disease on the development of metabolic disorders. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007;22(7):1086-91.
36. Sherman H, Frumin I, Gutman R, Chapnik N, Lorentz A, Meylan J, et al. Long-term restricted feeding alters circadian expression and reduces the level of inflammatory and disease markers. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2011;15(12):2745-59.
37. Kord-Varkaneh H, Salehi-Sahlabadi A, Tinsley GM, Santos HO, Hekmatdoost A. Effects of time-restricted feeding (16/8) combined with a low-sugar diet on the management of non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Nutrition*. 2023;105:111847.

Comparison of Non-invasive Methods in Assessing Combined Effects of Flaxseed Supplements and Intermittent Fasting Diets on Liver Fibrosis in Patients with Non-alcoholic Fatty Liver: A Randomized Clinical Trial Study

Khodadadi N¹, Sadeghi A², Poustchi H³, Abbasi B⁴, Nilghaz M¹, Hekmatdoost A^{*5}

1. Department of Clinical Nutrition & Dietetics, Faculty of Nutrition Science and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Liver and pancreatobiliary research group, Digestive Disease Research Institute, Tehran, Iran.
4. Department of Nutrition, Electronic Health and Statistics Surveillance Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5. *Corresponding author: Prof, Department of Clinical Nutrition & Dietetics, Faculty of Nutrition Science and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: a_hekmat2000@yahoo.com

Received 20 Jul, 2023

Accepted 30 Aug, 2023

Background and Purpose: Nonalcoholic fatty liver disease is known as a chronic liver disease, whose prevalence is increasing worldwide and if not treated can lead to hepatic cirrhosis and fibrosis. The gold standard for diagnosing non-alcoholic fatty liver disease and assessing the extent of liver fibrosis is liver biopsy; however, this is an invasive method that can lead to possible side effects. Therefore, use of non-invasive methods is suggested. The aim of this study was to assess effects of intermittent fasting and flaxseed consumption on liver fibrosis through non-invasive marker panel and Fibroscan in patients with non-alcoholic fatty liver disease.

Methods and Materials: Changes in liver fibrosis in fifty patients with non-alcoholic fatty liver disease were investigated using intermittent fasting diet with daily consumption of 30 g of flaxseed supplement in a randomized clinical trial. At the beginning and at the end of the study, height and weight of the participants were measured. Body mass index, physical activity questionnaire (physical activity using the international physical activity questionnaire) and 24-h recall were completed by the patients at the beginning and the end of the study. Approximate duration of the study was 12 w. Hepatic fibrosis assessment methods that used at the beginning and the end of the study included Fibroscan and calculation of non-invasive marker panel, such as fibrosis 4 (FIB-4), AST aminotransferase platelet ratio index (APRI) and body mass index, AST/ALT aminotransferase ratio, Diabetes (BARD).

Results: In general, 45 patients with nonalcoholic fatty liver disease with an average age of 46.83 years old and an average BMI of 32.79 kg/m² were included in the analysis. Results of this study showed that following diets with supplements, hepatic fibrosis score decreased using Fibroscan assay ($p = 0.507$), BARD ($p = 0.396$), FIB-4 ($p = 0.984$) and APRI ($p = 0.682$); however, none of them were statistically significant after 12 w, compared to the control group.

Conclusion: Results of Fibroscan and BARD, FIB-4 and APRI indices were similar in assessing liver fibrosis changes after the intervention. Future studies with larger sample sizes are needed to verify these results.

Keywords: Intermittent fasting, Flaxseed, Hepatic fibrosis, Non-alcoholic fatty liver disease