

Aus der Klinik für Pädiatrische Nieren-,
Leber- und Stoffwechselerkrankungen der
Medizinischen Hochschule Hannover



Improvement of BMI after Lifestyle Intervention is Associated with Normalisation of Elevated ELF Score and Liver Stiffness in Obese Children

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
in der Medizinischen Hochschule Hannover

Vorgelegt von

André Di Nanni aus Hannover

Hannover 2016

Angenommen vom Senat der Medizinischen Hochschule Hannover am 17.11.2017
Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Hochschule Hannover

Präsident: Prof. Dr. med. Christopher Baum
Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. med. Ulrich Baumann

1. Referent: Prof.'in Dr. med. Anke Bramesfeld
2. Referent: Prof.'in Dr. med. Heike Bantel

Tag der mündlichen Prüfung: 17.11.2017

Prüfungsausschuss

Vorsitz: Prof. Dr. med. Michael Peter Manns
1. Prüfer: Prof. Dr. med. Arnold Ganser
2. Prüfer Prof. Dr. med. Anibh Das

Inhalt

Einleitung.....	5
Definition der NAFLD/NASH.....	6
Diagnose der NAFLD.....	6
Zielsetzung und Fragestellung dieser Arbeit.....	8
Publikation im Originaldruck.....	10
Diskussion.....	18
Zusammenfassung.....	21
Abkürzungen / Abbildungen.....	22
Literaturverzeichnis.....	23
Lebenslauf.....	26
Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 6 und 7 der Promotionsordnung.....	29

Meinen lieben Eltern.

Meiner Frau Ela, meinen Kindern Leija, Lianne und Linus, ohne die ich niemals ganz sein könnte,
Danke.

Einleitung

Weltweit treten Übergewicht und Adipositas als rasant wachsendes und längst auch unter Kindern und Heranwachsenden als zunehmendes Gesundheitsproblem in Erscheinung und stellen die Kinder- und Jugendmedizin vor neue Herausforderungen^{1,2}. Bereits im Mai 2004 titelte die WHO in ihrem IOTF-Childhood Obesity Report *"EU childhood obesity out of control"*. Sie spricht davon, dass 24% der Kinder zwischen 5-17 Jahren in Europa übergewichtig seien und bezieht sich bei ihren Schätzungen auf Datenlagen aus der Schweiz, Großbritannien, Italien, den Niederlanden, Dänemark und Finnland³⁻⁷. Betrachtet man die Situation in der Bundesrepublik Deutschland, sind 14,8% der Kinder übergewichtig (BMI >25 kg/m²) und davon 6,3% der Kinder- und Jugendlichen adipös (BMI >30 kg/m²)⁸.

Adipositas wird von multiplen Komorbiditäten begleitet, die nahezu sämtliche Organsysteme beeinträchtigen können und nachweislich zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität führen^{9,10}. Neben den

kardiovaskulären¹¹

und pulmonalen Komorbiditäten¹² gibt

es auch aus gastroenterologischer

Sicht erhebliche Beeinträchtigungen¹³⁻

¹⁵. Hierzu zählt vor allem die nicht-

alkoholische

Fettlebererkrankung

(NAFLD). In der

industrialisierten Welt stellt die NAFLD die

häufigste chronische Lebererkrankung des

Kindesalters dar, die in

übergewichtigen Kohorten mit Prävalenzraten bis zu 80% auftritt^{16,17}. Kinder und

Jugendliche mit diagnostizierter nicht-alkoholischer Fettlebererkrankung weisen demnach zum Teil alarmierende Langzeitprognosen auf, wie sie unter anderem von Feldenstein et al.

2009 publiziert worden sind¹⁸.

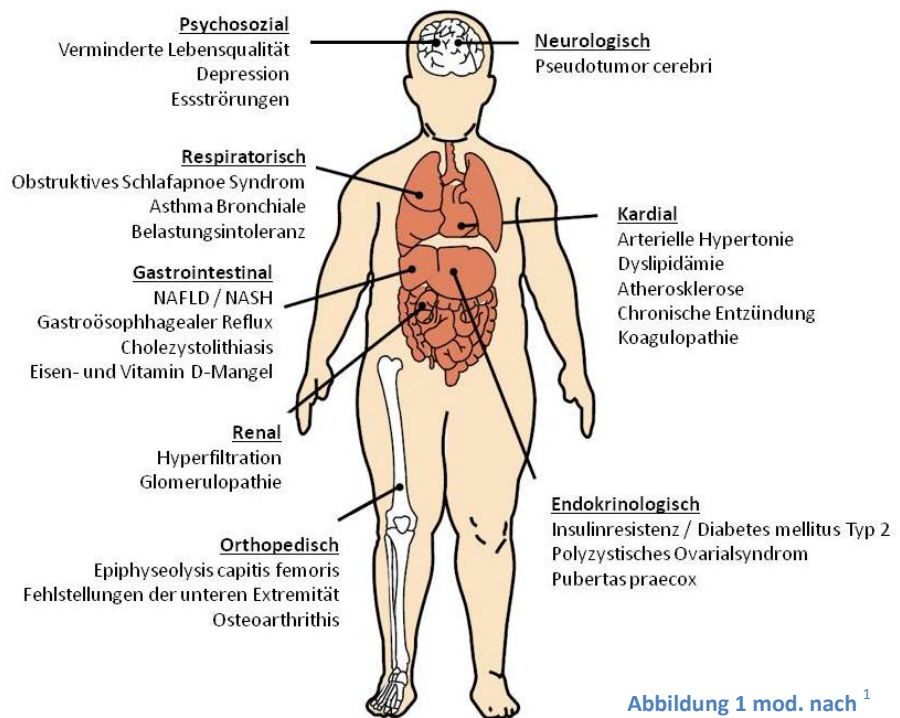


Abbildung 1 mod. nach ¹

Definition der NAFLD/NASH

Als NAFLD wird meist das gesamte Spektrum der Adipositas-assoziierten Leberaffektion bezeichnet. Dieses reicht von der einfachen Fettleber (Steatosis hepatis, NAFL) über die nicht-alkoholische Fettleberentzündung (NASH) mit oder ohne assoziierte Leberfibrose verschiedener Schweregrade bis zur terminalen Lebererkrankung mit der Notwendigkeit zur Lebertransplantation¹⁶. Die NAFL ist histopathologisch definiert über den prozentualen Anteil der mikro- oder makrovesikulierten Hepatozyten, demnach ist eine Infiltration von >5% mit der Diagnose vereinbar¹⁹. Der Übergang von einer NAFL in eine NASH, also von einfacher Steatose hin zu einem Leberparenchymschaden in Form von hepatozytärer Ballonierung und Nekroapoptose mit oder ohne Fibrose, ist dabei fließend. Kinder weisen dabei tendenziell andere histologische Charakteristika auf als Erwachsene mit NAFLD. So sind bei Kindern seltener Ballonierung und perisinusoidale Fibrose zu finden, dafür aber häufiger makrovesikuläre Steatose, portale Inflammation und ggf. portale Fibrose²⁰. Zur Erklärung der Pathogenese wird häufig das Modell der „Multiple Hit“-Theorie herangezogen. Wesentliche Faktoren, welche für das Voranschreiten der Erkrankung verantwortlich gemacht werden, sind die Insulinresistenz, oxidativer Stress und die daraus resultierende Entzündungskaskade. Insulinresistenz führt zur vermehrten Freisetzung freier Fettsäuren aus Adipozyten und Myozyten, welche in der Leber akkumulieren und zur NAFL führen. Konsekutiv kommt es zu einem komplexen Zusammenspiel zwischen Hepatozyten, Kupfferschen Sternzellen, Adipozyten, proinflammatorischen Zytokinen und Sauerstoffradikalen. Durch die Oxidation freier Fettsäuren in Mitochondrien, Peroxisomen und Mikrosomen entstehen reaktive Nebenprodukte, welche eine chronische Entzündungsreaktion unterhalten. Einer chronischen Inflammation folgt der Leberzellschaden und langfristig die Entstehung von Fibrose und Zirrhose²¹. Proinflammatorische Zytokine wie der Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF-alpha), das Interleukin-1 beta (IL-1 beta) und das Adiponectin scheinen dabei einen erheblichen Einfluss auf die Progression zu haben^{22,23}.

Diagnose der NAFLD

Das hepatologische Komitee der europäischen Gesellschaft für Kindergastroenterologie, Hepatologie und Ernährung (ESPGHAN) hat 2012 ein umfangreiches Positionspapier zur Diagnosestellung der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) veröffentlicht²⁴. Hierin wird für alle adipösen Kinder und Jugendlichen ein primäres Screening mittels Sonographie und Transaminasen-Bestimmung empfohlen. Weiterführende Diagnostik benötigen demnach adipöse Patienten, die Auffälligkeiten im B-Bild Ultraschall der Leber (Hyperechogenität) und / oder erhöhte Transaminasen aufweisen. Die konkreten weiteren diagnostischen Schritte sind abhängig vom Ergebnis dieser Screening-Untersuchungen und vom Vorliegen weiterer Faktoren, insbesondere dem Alter der Kinder, dem klinischen Untersuchungsbefund und dem möglichen Vorliegen einer Insulinresistenz. Hierbei kommt vor allem dem Ausschluss anderer hepatologischer Erkrankungen, die mit einer Fettleber einhergehen können, wichtige Bedeutung zu.

Erhöhte Transaminasen sind ein häufiges Phänomen in übergewichtigen Populationen (bis zu 10% bei Kindern mit einem BMI \geq 95. Perzentile)²⁵. Für den einfachen Leberultraschall wird beim Erwachsenen eine Sensitivität von 60-96% und eine Spezifität von 84-100% zur Detektion einer NAFL angegeben. Hierbei gilt, dass die Sensitivität umso höher, je ausgeprägter die Steatose ist²⁶⁻²⁸. Bei Kindern ist die Datenlage deutlich schlechter. Hier findet sich nur eine Studie mit 208 Kindern, in der jedoch vergleichbare Ergebnisse beschrieben werden²⁹.

Noch keinen abschließenden Konsens gibt es hinsichtlich der Nutzung der Leberbiopsie zur Diagnose der NAFLD bei Kindern. Die ESPGHAN empfiehlt in ihrem Positionspapier in Anlehnung an eine Arbeit von Roberts et al.³⁰, die Leberbiopsie im Rahmen ihres diagnostischen Flussdiagramms als Möglichkeit bei Verdacht auf fortgeschrittene Lebererkrankung, bei Kindern < 10 Jahren, bei Kindern mit positiver Familienanamnese für eine NAFLD und nicht zuletzt zum Ausschluss anderer hepatologischer Erkrankungen. Gleichzeitig wird betont, dass die Entscheidung zur Biopsie im Einzelfall schwierig sein kann.

Die Leberbiopsie ist nach wie vor die einzige diagnostische Prozedur, welche eine Differenzierung zwischen NAFL und NASH erlaubt²⁴. Das NASH Clinical Network empfiehlt zur diagnostischen Standardisierung den NAFLD activity score (NAS). In ihm werden neben dem Grad der Steatose, die Schwere der Entzündung der Leberläppchen und das Ausmaß der hepatozellulären Ballonierung berücksichtigt³¹. Dennoch scheint die diagnostische Güte nicht in allen Fällen optimal, da die Gefahr einer Unter- oder Überschätzung des Fibrosegrades besteht. Zudem werden bis zu einem Drittel der NASH-Fälle, trotz Biopsie fälschlicherweise nicht diagnostiziert³², sodass mehrere Biopsiezylinder nötig sein können, um die Genauigkeit zu erhöhen³³. Aufgrund der Invasivität, der hohen Kosten und der potenziell lebensbedrohlichen Komplikationen ist die Leberbiopsie als Screeningverfahren in Bezug auf eine NAFLD nicht dienlich.

Unter Berücksichtigung der beschriebenen Defizite und der damit verbundenen Risiko-Nutzenabwägung wurden in der Vergangenheit einige nicht-invasive diagnostische Instrumente an Populationen mit histologisch gesicherter Adipositas-assoziiertes Lebererkrankung untersucht^{23,24,34-40}. Unklar ist bislang, wie hoch die Rate an pathologischen Ergebnissen dieser nicht-invasiven Tests als Hinweis auf eine signifikante Leberbeteiligung innerhalb adipöser Kohorten ist, bei denen ansonsten keine Indikation zur Leberbiopsie besteht.

Ein (nicht-invasives) einfach anzuwendendes Screening-Instrument zur Identifizierung Adipositas-assoziiertes Lebererkrankungen würde den diagnostischen Prozess optimieren und die Selektion von Kindern, welche weiterführende invasive Diagnostik benötigen, deutlich erleichtern. Zudem könnte ein (Leber-) Monitoring als zusätzliche Motivationshilfe des Gewichtsreduktionsprozesses dienen. Zu den bislang untersuchten nicht-invasiven diagnostischen Instrumenten zur Diagnose der NAFLD zählen unter anderem die transiente

Elastographie (TE) mittels Fibroscan sowie der Serummarker ELF Test (Enhanced Liver Fibrosis Test).

Die Anwendung der transienten Elastografie (TE) wurde erstmals an adulten Patienten mit chronischer Hepatitis C beschrieben⁴¹ und korreliert gut mit der Histopathologie bei Kindern und Erwachsenen mit chronischer Lebererkrankung einschließlich der NAFLD^{39,42}. Bei Erwachsenen wird eine Sensitivität zwischen 81-85%, bei einer Spezifität von 74-78% zur Detektion einer NAFLD postuliert²⁴. Die TE ist schnell, schmerzlos und mit hoher Reproduzierbarkeit durchführbar. Man bedient sich eines mechanischen Impulses, welcher mittels einer speziellen Ultraschallsonde in das Lebergewebe appliziert wird. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der mechanischen Welle innerhalb des Leberparenchyms wird sonografisch bestimmt und daraus die Lebersteifigkeit quantitativ errechnet. Dabei gilt auf der Basis physikalischer Grundsätze, dass die Ausbreitung des gesetzten mechanischen Impulses umso schneller, je rigider das Gewebe ist. Damit lässt sich eine positive Korrelation zwischen der Höhe der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Scherwelle und dem Steifheitsgrad der Leber (als Surrogatparameter für das Ausmaß einer Leberfibrose) ableiten. Über die letzten Jahre konnte in multiplen Studien die gute diagnostische Genauigkeit der TE in Bezug auf die Detektion einer Leberzirrhose sowie in der Differenzierung zwischen höheren Fibrosegraden gezeigt werden, unter anderem auch in einer Population von Jugendlichen mit biopsie-gesicherter NAFLD^{43,44}.

Der Enhanced Liver Fibrosis Test (ELF Test) beruht auf der quantitativen Bestimmung der Hyaluronsäure (HA), aminoterminalen Propeptid von Procollagen des Typs III (PIIINP) und des Gewebeinhibitors der Metalloproteinase 1 (TIMP-1) im Serum. Diese Biomarker spiegeln die extrazellulären Matrixkomponenten der Fibrogenese und Fibrolyse direkt wider. Die Summation dieser drei Biomarker in einem speziellen Algorithmus ermöglicht die Bestimmung des ELF Scores. Als erstes wurde dieser 2004 in einer Arbeit von Rosenberg et al. in Gastroenterology validiert⁴⁵. Auch in den folgenden Jahren erwies sich dieses Diagnostikum in einer Vielzahl von biopsie-validierten Studien mit unterschiedlichem Patientenkontext als reproduzierbar, mit guter Sensitivität (78-83%) und Spezifität (71-76%) zur Detektion und Quantifizierung einer Fibrose, gerade im Rahmen einer NAFLD^{37,40,46,47}.

Zielsetzung und Fragestellung dieser Arbeit

In der vorliegenden Dissertationsarbeit und dem daraus entstandenen Fachartikel „Improvement of BMI after Lifestyle Intervention is Associated with Normalisation of Elevated ELF Score and Liver Stiffness in Obese Children“, veröffentlicht im BioMed Research International (Peer Review Journal), wurden die transiente Elastografie – FibroScan® und der Enhanced Liver Fibrosis Test – ELF Test™ an einer übergewichtigen pädiatrischen Population untersucht. Die Studienteilnehmer wurden aus dem zertifizierten Adipositas-Programm „Kindergewicht intensiv Coaching im Krankenhaus - KiCK“ (Kinderkrankenhaus auf der Bult) rekrutiert. Die Studie ist als Longitudinal-Untersuchung (Panelstudie) konzipiert. Die Daten wurden zu Beginn sowie zum Ende der 12-monatigen Intervention gewonnen. Als Vergleich

dienten Daten von gesunden, nicht-adipösen Kindern. Zentrale Frage der Arbeit war dabei, inwieweit die genannten nicht-invasiven Testverfahren bei unselektierten adipösen Kindern pathologische Ergebnisse liefern, die als Hinweis für eine NAFLD und damit als Selektionskriterium für eine weiterführende Diagnostik dienen könnten. Außerdem sollte der Effekt der Gewichtsreduktion auf die Ergebnisse der nicht-invasiven Verfahren untersucht werden mit der Frage, inwieweit sich diese für das Monitoring des Therapie-Erfolges aus hepatologischer Sicht eignen.

Dabei konnten wir im Rahmen der Eingangsuntersuchung signifikant erhöhte TE und ELF Ergebnisse in unserer übergewichtigen Studienpopulation im Vergleich zu der Kontroll-Kohorte dokumentieren (TE: 5.9 (3.4–8.3) kPa versus 4.45 (2.45–8.85) kPa, $p < 0.01$; ELF: 9.0 (7.87–9.60) versus 8.6 (7.33–11.52), $p = 0.033$). Bemerkenswert war zudem, dass bei allen Kindern mit auffälligen Tests die Transaminasen, normwertig waren. Nach der Intervention fanden wir bezüglich TE und ELF keinerlei Unterschiede zwischen den untersuchten Kohorten mehr. Die Verbesserung der Werte war dabei signifikant mit der Reduktion der BMI-Perzentile assoziiert ($p = 0.001$) (ausführlichere Angaben zu Methoden und den Ergebnissen können dem Originalartikel entnommen werden).

Clinical Study

Improvement of BMI after Lifestyle Intervention Is Associated with Normalisation of Elevated ELF Score and Liver Stiffness in Obese Children

Imeke Goldschmidt,¹ André Di Nanni,¹ Carolin Streckenbach,¹ Kerstin Schnell,² Thomas Danne,² and Ulrich Baumann¹

¹Paediatric Gastroenterology and Hepatology, Children's Hospital, Hannover Medical School, 39625 Hannover, Germany

²Children's Hospital "Auf der Bult", 30173 Hannover, Germany

Correspondence should be addressed to Imeke Goldschmidt; goldschmidt.imeke@mh-hannover.de

Received 24 October 2014; Accepted 4 February 2015

Academic Editor: Fabio Galvano

Copyright © 2015 Imeke Goldschmidt et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background. Noninvasive tools to diagnose nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), including transient elastography (TE) and enhanced liver fibrosis panel (ELF), have only been evaluated in children with biopsy-proven NAFLD. We evaluated the prevalence of ELF and TE abnormalities in obese children without clinical liver disease and examined the effects of BMI stabilization on ELF and TE in a longitudinal approach. **Methods.** 39 obese children (17 m, age 12.3 (7.6–17.4) years) who participated in a 12-month lifestyle-intervention program underwent TE and ELF testing at baseline and at completion of the program. Results were compared with data from a nonobese paediatric cohort. **Results.** TE and ELF at baseline were significantly elevated compared to controls (TE: 5.9 (3.4–8.3) kPa versus 4.45 (2.45–8.85) kPa, $P < 0.01$; ELF: 9.0 (7.87–9.60) versus 8.6 (7.33–11.52), $P = 0.033$). All children with elevated TE and ELF results had normal transaminases. After the program, ELF and TE normalized. Reduction of ELF and TE was associated with a decrease in BMI centile. **Conclusion.** Abnormal TE and ELF results in obese children suggest presence of NAFLD even when transaminases are normal. TE and ELF might be used as monitoring tools for NAFLD. BMI stabilisation normalizes TE and ELF, underlining the impact of lifestyle intervention.

1. Introduction

Childhood obesity represents a growing problem in industrialized nations. It can be accompanied by a number of comorbidities, including metabolic syndrome with arterial hypertension, type 2 diabetes, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) or steatohepatitis (NASH) [1]. NASH/NAFLD has now become the most frequent cause for chronic liver disease in children in industrialised nations [2]. According to some reports, NAFLD appears to be prevalent in up to 80% of obese children [2, 3] and can progress to hepatic cirrhosis requiring liver transplantation in individual cases [4].

Elevated transaminases are a frequent feature in obese children (up to 10% in children with BMI \geq 95th centile) [5]. The clinical challenge lies in determining who should undergo more detailed investigations for NAFLD and NASH,

which in suspicion of advanced disease still comprise liver biopsy [6].

Several noninvasive approaches in obese children have been evaluated in order to screen for NAFLD and NASH [7–15]. The majority of these studies have been conducted in children with an established diagnosis of obesity-related liver disease based on liver biopsy. The prevalence of abnormal test results for noninvasive tests in obese children with no other indication of liver disease is unclear. A screening tool that would permit identification of those children at risk of obesity-related liver disease would facilitate the streamlining of diagnostic procedures and the selection of candidates for more invasive diagnostics and for continued surveillance and might also serve as an additional motivator for the implementation of life-style changes.

Our study examines the use of two noninvasive techniques in obese children, namely, liver elastography by

TABLE 1: Demographic and baseline clinical characteristics of the study population.

	<i>n</i> (%) / median (range)
Obese study population	
Gender	
Boys	17 (44%)
Girls	22 (56%)
Age (years)	12.3 (7.6–17.4)
Characteristics of obesity	
BMI (kg/m ²)	28.48 (20.9–42.7)
BMI percentile	99.1 (90.7–99.9)
BMI-SDS	2.36 (1.33–3.58)
WHR	0.61 (0.51–0.74)
WC > 90th centile	39 (100%)
Triglycerides (mg/dL)	80 (25–317)
Above ULN	9 (23.07%)
Total cholesterol (mg/dL)	177 (108–289)
Above ULN	5 (12.82%)
LDL cholesterol (mg/dL)	110 (44–225)
Above ULN	16 (41%)
Fasting glucose (mg/dL)	84 (69–107)
Above ULN	0 (0%)
HOMA index (<i>n</i> = 37)	3.2 (1.1–7.4)
>1	37 (100%)
>3	22 (59%)

BMI: body mass index; SDS: standard deviation score; WHR: waist-to-height ratio; WC: waist circumference; ULN: upper limit of normal; HOMA: homeostasis model assessment; n.r.: not recorded.

Upper limits of normal: triglycerides 120 mg/dL, cholesterol 250 mg/dL, fasting glucose 120 mg/dL, HOMA index <1, and LDL cholesterol 116 mg/dL.

Fibroscan and serological determination of the enhanced liver fibrosis (ELF) score, in a longitudinal approach. We examined the prevalence of abnormal test results for ELF and Fibroscan in an unselected cohort of obese children. Furthermore, we have studied the development of these markers after a structured nutrition-exercise-behaviour-intervention program for obese children in order to see whether improvement of markers of obesity will result in improvement in noninvasive markers of associated liver disease.

2. Subjects and Methods

2.1. Patients. Between February 2011 and August 2012, all children who had been enrolled in the lifestyle-intervention program “KiCK” at Children’s Hospital “Auf der Bult” in Hannover targeting childhood obesity were approached for participation in our study. Of 48 eligible children, 39 (age 7.6–17.4 years, median 12.3 years, 17 boys, 22 girls) agreed to participate. Demographic and baseline clinical characteristics of the participants are described in Table 1.

Study participants underwent Fibroscan examination and blood sampling for ELF testing on the occasion of routine visits at the beginning and at the end of the 12-month lifestyle-intervention program. Medical background data and routine laboratory results were extracted from the patients’ notes.

2.2. Controls. *N* = 85 healthy children (33 girls and 52 boys, age 3.8 (0.3–15.8) years) who underwent blood sampling at the occasion of minor surgery were recruited as normal controls for ELF test. Normal values for transient elastography (TE) were drawn from a cohort of 270 healthy children (153 boys, 117 girls) aged 0.3–17.7 (median 7.0) years as published by our group in [16].

Informed consent was obtained from the patients’ and controls’ legal guardians and the patients/controls themselves if appropriate.

The study protocol was approved by the local ethics board of Hannover Medical School and is in compliance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association.

2.3. Lifestyle-Intervention Program. The lifestyle-intervention program “KiCK” targets obese children between the ages of 8 and 17 years. It comprises a thorough medical examination, a psychological evaluation, weekly group meetings with exercise sessions, and regular educational activities covering topics such as healthy eating, nutrition behavior, and dealing with everyday problems. Parents and guardians are included in the educational activities. The program runs for a total of 12 months. Participants are subsequently followed up in a dedicated obesity clinic. Only children with a BMI > 97th centile are eligible for participation.

2.4. Liver Stiffness Measurements. Liver stiffness measurements (LSM) were performed by transient elastography (TE) using the Fibroscan (Echosens, Paris, France). Echosens provides two measurement probes (S, M), which will perform elastography in varying depths ranging from 15–40 mm (S1) and 20–50 mm (S2) to 25–65 mm (M). For the vast majority of patients, the M probe was used based on the manufacturer’s recommendation for probe choice according to chest circumference (CC) and age (CC < 45 cm or age < 6 years S1 probe, CC 45–75 cm or age 6–14 years S2 probe, and CC > 75 cm or age > 14 years M probe). An XL probe was not available at the time of the study.

For the liver stiffness measurements, patients were in supine position with the right arm in abduction. Manufacturer recommendation is to perform Fibroscan measurements in the anterior axillary line. Depending on distribution of subcutaneous fat in this particular study population, we sometimes had to deviate from this and perform measurements in the mid-clavicular line.

Fibroscan results were only considered acceptable if the following conditions were met: at least 8 valid measurements were obtained in one particular site of measurement (met in 30 patients at the baseline visit and in 21 at the follow-up visit) and the ratio of the median of ten successive measurements and the interquartile range (IQR) was <30% (failed in 2 cases with valid number of measurements). A total of 49 acceptable Fibroscan examinations were obtained in *n* = 39 patients (28 at baseline, 21 at follow-up).

2.5. Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Test. The enhanced liver fibrosis test (ELF test, Siemens) combines hyaluronic acid

TABLE 2: Hepatic involvement in obese study group at baseline in comparison to healthy controls or laboratory reference range.

	Obese cohort median (range)	Healthy controls median (range)	P
ALT (ULN 39 U/L)	19 U/L (10–60)		
AST (ULN 41 U/L)	23 U/L (10–41)		
GGT (UNL 44 U/L)	22 U/L (3–44)		
Bilirubin (ULN 9 μ mol/L)	5 μ mol/L (2–14)		
Transient elastography (ULN 6.5 kPa)	5.9 kPa (3.40–8.30) n = 28 Above ULN: n = 8 (28%)	4.45 kPa (2.45–8.85) n = 270	<0.01
Enhanced liver fibrosis (ELF) test cut-off for “any” fibrosis: 9.28	9.0 (7.87–9.60) n = 33 Above 9.28: n = 7 (21%)	8.6 (7.33–11.52) N = 85	0.033

ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; GGT: gamma-glutamyl transpeptidase; ULN: upper limit of normal; TE: transient elastography; ELF: enhanced liver fibrosis panel.

(HA), amino-terminal propeptide of type III collagen (PII-*INP*), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in an algorithm. According to the manufacturers, the following cut-off values are applicable: values <7.7 for mild or no fibrosis, 7.7–9.8 for moderate fibrosis, and >9.8 for severe fibrosis. Serum samples for ELF testing were obtained in n = 33 patients for the baseline visit and in 27 patients for the follow-up visit. Samples were frozen and stored at –20°C until time of analysis. Siemens ADVIA Centaur was used for analysis.

2.6. Statistics. Continuous variables are given as median and range. For categorical variables, frequencies and percentages are given. Wilcoxon signed-rank test was used to compare paired data from before and after the lifestyle-intervention program. Chi-square test was used to compare frequencies of categorical variables in different groups.

3. Results

3.1. Degree of Obesity and Associated Medical Issues at Baseline. 39 children were available for baseline assessment before the start of the KiCK program. Baseline parameters of obesity are described in Table 1. 34/39 children had a BMI above the required 97th centile at baseline.

We determined homeostasis model assessment (HOMA) index as a marker for the presence of insulin resistance and fasting triglycerides and cholesterol as a marker for dyslipidemia. HOMA index was found to be above normal (i.e., >1) in the whole study population and in a range suggestive of insulin resistance (>3) in n = 21. Dyslipidemia with raised triglyceride and/or cholesterol levels was present in 9 and 5 children, respectively; 16 and 12 children, respectively, had raised LDL cholesterol. Based on these findings, 9 children fulfilled the definition of having metabolic syndrome, as defined by a cooccurrence of three or more features of obesity with waist circumference (WC) > 90th centile, dyslipidemia, alterations of glucose metabolism, and hypertension.

3.2. Hepatic Involvement at Baseline. Liver function tests and results of TE and ELF test are given in Table 2. ALT,

AST, and GGT were normal in the majority of children, giving no indication of obesity-related liver disease. However, liver stiffness values were found to be significantly elevated compared to healthy controls (5.9 (3.4–8.3) kPa versus 4.45 (2.45–8.85) kPa, $P < 0.01$). 28.6% (n = 8) of our study participants showed liver stiffness values above the upper limit of normal (6.5 kPa).

ELF values were equally found to be significantly higher in the obese study participants when compared to healthy controls. 21.2% (n = 7) of our participants had ELF values above the cut-off of 9.28 given as the cut-off for “any fibrosis” in [13].

3.3. Change in Anthropometric Measures and Laboratory Values after 12 Months of Lifestyle-Intervention Program. Pre- and postintervention data were available for 36 children. After 12 months of lifestyle intervention, an overall significant improvement for BMI percentile and BMI-SDS could be observed (Table 3), even though individual patients failed the program completely (Figure 1). There was a nonsignificant trend for HOMA index to improve ($P = 0.09$). While triglyceride levels improved significantly ($P = 0.02$), neither total cholesterol nor LDL cholesterol showed a significant change. ALT levels stayed in the range of normal for the majority of patients but nevertheless showed a significant increase ($P = 0.02$).

3.4. Change in Hepatic Parameters after 12 Months of Lifestyle-Intervention Program. Liver stiffness values improved after the program, although this difference failed to reach the level of significance ($P = 0.076$). Postprogram liver stiffness values did not differ from control values any more (Figure 2(a)). ELF values improved significantly ($P = 0.02$) and were similarly not different from control values any more (Figure 2(b)).

3.5. Influences on Improvement of ELF Scores and Liver Stiffness Measurements. Improvement of BMI centiles, BMI-SDS, and WHtR was significantly associated with a decrease in liver stiffness (Table 4, $P = 0.001$, chi-square). Similarly, a decrease in BMI centiles and BMI-SDS was significantly

TABLE 3: Anthropometric measures and laboratory values at baseline and after 12 months.

	<i>n</i>	Obese study population, baseline, median (range)	<i>n</i>	Obese study population, follow-up, median (range)	<i>P</i>
BMI					
All participants	39	28.48 (20.9–42.7)			
Patients with paired follow-up data	36	28.13 (20.9–42.7)	36	27.79 (19.2–44.9)	0.925
BMI percentile					
All participants	39	99.1 (90.7–99.9)			
Patients with paired follow-up data	36	98.95 (90.7–99.9)	36	98.55 (81.3–99.9)	0.003
BMI-SDS					
All participants	39	2.36 (1.33–3.58)			
Patients with paired follow-up data	36	2.31 (1.33–3.58)	36	2.25 (0.90–3.68)	0.028
WHtR					
All participants	39	0.61 (0.51–0.74)			
Patients with paired follow-up data	33	0.60 (0.51–0.73)	33	0.60 (0.47–0.77)	0.914
Triglyceride					
All participants	39	80 mg/dL (25–317)			
Patients with paired follow-up data	36	81 mg/dL (25–317)	36	61 mg/dL (22–328)	0.020
Total cholesterol					
All participants	39	177 mg/dL (108–289)			
Patients with paired follow-up data	36	180 mg/dL (108–289)	36	166 mg/dL (108–265)	0.090
LDL cholesterol					
All participants	39	110 mg/dL (44–225)			
Patients with paired follow-up data	36	110 mg/dL (44–225)	36	104 mg/dL (48–207)	
Fasting glucose					
All participants	39	84 mg/dL (69–107)			
Patients with paired follow-up data	36	84 mg/dL (69–107)	36	81 mg/dL (67–97)	0.002
HOMA index					
All participants	37	3.2 (1.1–7.4)	31	2.4 (0.3–7.1)	
Patients with paired follow-up data	29	3.2 (1.1–7.4)	29	2.3 (0.3–7.1)	0.091
Transient elastography					
All participants	28	5.9 kPa (3.4–8.3)	21	4.5 kPa (2.4–9.6)	
Patients with paired follow-up data	18	5.0 kPa (3.4–8.3)	18	4.4 kPa (2.4–9.6)	0.076
Enhanced liver fibrosis (ELF) test					
All participants	33	9.0 (7.87–9.60)	27	8.51 (7.15–9.55)	
Patients with paired follow-up data	25	8.9 (7.87–9.60)	25	8.51 (7.15–9.55)	0.02

BMI: body mass index; WHtR: waist-to-height ratio; HOMA: homeostasis model assessment.

associated with a decrease in ELF test (Figures 3(a) and 3(b)). Decrease in HOMA index did not show any association with ELF or TE improvement.

4. Discussion

In our study, we addressed the issue of whether the non-invasive markers transient elastography as measured by Fibroscan and enhanced liver fibrosis panel ELF could serve as screening tools for hepatic involvement in obese children who otherwise show no indication of liver disease. We also wanted to examine the effects of potential BMI improvement

on liver stiffness and ELF score, with a view that has effects on noninvasive parameters which might help to underline the overall health benefit of weight loss for these patients. To the best of our knowledge, this is the first study that looks at the development of ELF and TE in a longitudinal approach during weight loss.

NASH and NAFLD can be difficult to diagnose in obese children and adolescents. Usually, elevated transaminases are used as a screening tool for NAFLD [17, 18]. According to current ESPGHAN recommendations, a diagnosis is then made based on ultrasound findings, age of the child, concurrent risk factors, exclusion of other liver diseases, and possibly liver

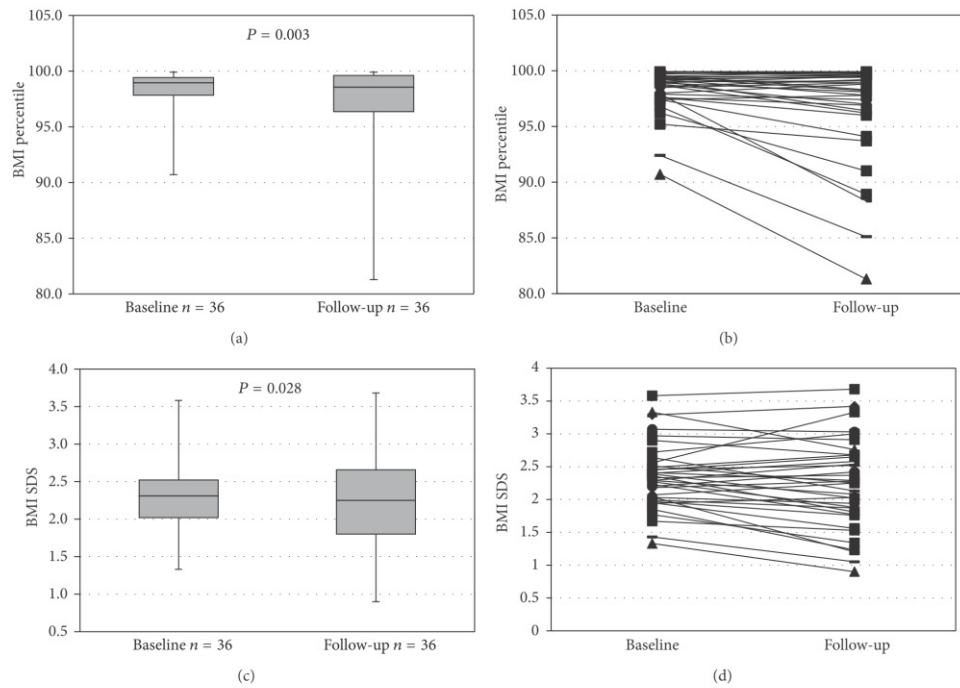


FIGURE 1: BMI at baseline and follow-up.

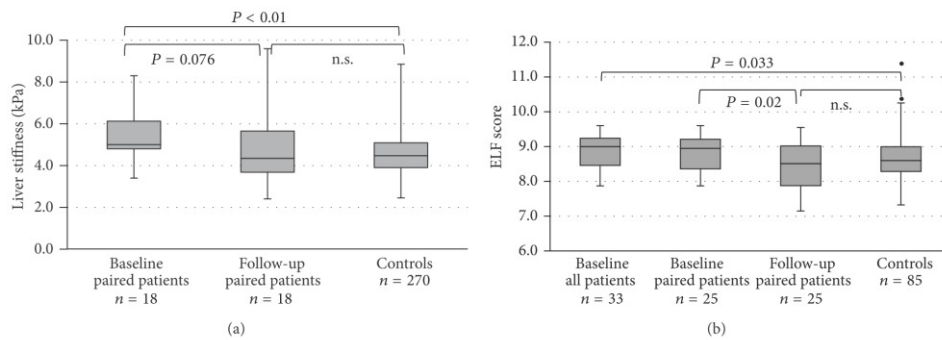


FIGURE 2: ELF and TE at baseline and follow-up.

biopsy. About 10% of children are with BMI \geq 95th centile present with elevated transaminases [5]. However, NAFLD has also been found in patients with normal transaminases [2, 19]. A screening based solely on levels of transaminases therefore risks missing children who have or are at risk of developing NAFLD. Noninvasive screening tools could

help to identify children that merit further surveillance and investigation.

We found both liver stiffness and ELF score to be significantly elevated in obese children compared to a healthy nonobese control sample. Almost one-third of obese children had increased liver stiffness values initially, and 20% had ELF

TABLE 4: Trend cross table and Pearson's chi-square test.

	Enhanced liver fibrosis (ELF) test				Transient elastography (Fibroscan)			
	Stable	Improved	Deteriorated	<i>n</i>	Stable	Improved	Deteriorated	<i>n</i>
BMI percentile								
Stable	0	2	0	2	0	0	0	0
Improved	0	12	4	16	1	12	1	14
Deteriorated	0	5	2	7	0	0	4	4
<i>n</i>	0	19	6	25	1	12	5	18
Pearson's chi-square test		<i>P</i> = 0.001				<i>P</i> = 0.001		
BMI-SDS								
Stable	0	0	0	0	0	0	0	0
Improved	0	13	4	17	1	12	1	14
Deteriorated	0	6	2	8	0	0	4	4
<i>n</i>	0	19	6	25	1	12	5	18
Pearson's chi-square test		<i>P</i> = 0.001				<i>P</i> = 0.001		

BMI: body mass index; SDS: standard deviation score.

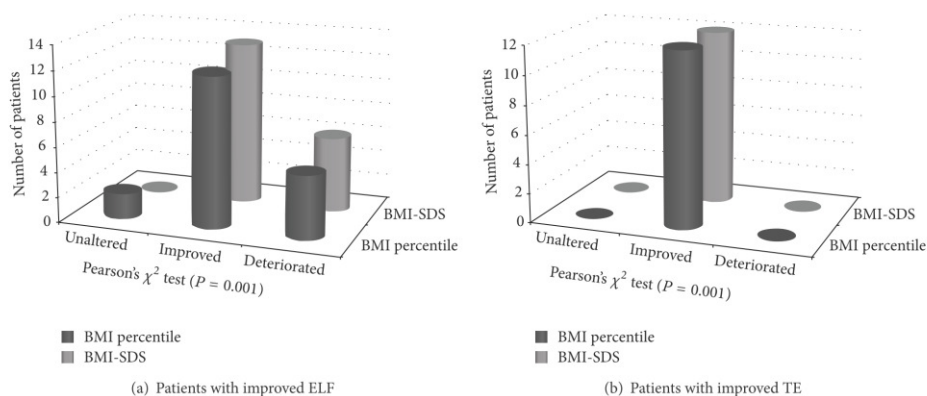


FIGURE 3: Changes in BMI according to improvement in TE and ELF.

values that have previously been described as indicative of hepatic fibrosis [10, 13]. None of the children with abnormal TE or ELF test results had abnormal transaminases, meaning that ELF and TE were the only parameters indicating liver affection.

Maximal TE values were 8.3 kPa. The cut-off for the diagnosis of significant fibrosis in an adolescent NAFLD population has been previously reported at 7.4 kPa [12] and 8.6 kPa [9], while values between 5 and 7 kPa suggested presence of abnormality [12]. The drawback is that transient elastography, while good at detecting advanced fibrosis with high sensitivity, lacks the power to precisely discriminate low degrees of fibrosis. It is therefore impossible to precisely determine the exact severity of hepatic changes in the children of our cohort. Based on the publications by Nobili and Alkhoury [9, 12], however, we have to assume that the elevated TE results reflect a certain degree of hepatic steatosis and/or fibrosis that would otherwise have been undetected. A comparison of our liver

stiffness results for histology of course would have been ideal but was impossible for ethical reasons.

As for ELF, normal ranges for children and adolescents have not been published previously. Normal values in adults were found to be dependent on age and gender [20], with higher values in men and in adults >30 years versus <30 years of age. Our own control cohort is too small to calculate centiles according to age and gender. Based on the findings of Litchinghagen et al. [20], it is conceivable that the postulated difference between ELF values in the obese cohort versus the control cohort results in part from an age difference between the groups. However, the age of the study population in [13] giving a cut-off of 9.28 for the presence of any fibrosis in adolescents with biopsy-proven NASH/NAFLD was very similar to the age of our cohort.

As for any test, its diagnostic value and accuracy depend on the characteristics of the patient sample and the clinical question it is used for. Other studies that evaluated the

use of TE or ELF for the diagnosis of NASH/NAFLD used preselected patient cohorts that had biopsy-proven NAFLD [7–15]. While cut-offs and their interpretation from these diagnostic studies cannot be unquestioningly transferred to screening populations like our cohort, our findings still show that there can be hepatic effect in obesity that might otherwise go unrecognized.

The current ESPGHAN guidelines for the diagnosis of NAFLD/NASH describe the following indications for liver biopsy: to rule out other treatable diseases, in case of clinically suspected advanced liver disease, before pharmacological or surgical treatment and as part of structured intervention protocols or clinical trials [14]. ELF and TE could help to identify patients for heightened NASH/NAFLD surveillance and possible liver biopsy.

After the program, only 2 children still had liver stiffness values above the upper limit of normal, and ELF decreased significantly. One limitation here is certainly the small amount of paired data due to technical failure of the Fibroscan examination in some of the patients. The reduced success rate of TE in obese patients has been reported repeatedly [16, 21]. The use of an XL probe would have been ideal; however, this probe was not available yet at the time of the study. Also, differences in liver stiffness results, according to which probe is used, have been described [16, 22]. We therefore consider it an advantage that both the obese cohort and the control children were examined with the M probe. The limited number of paired pre- and post-TE exams might explain why the pre-/postdifference failed to reach the level of significance.

Another limitation of this study is the low overall impact of the structured lifestyle-intervention program. While there was a clear-cut effect on BMI centile, this effect in total was small and many children stayed well in the obese spectrum. This success rate is comparable to other published reports on the feasibility and effects of lifestyle-intervention programs [23–26]. The KiCK program has previously been shown to be associated with an improvement in quality of life of the participants, which in part was independent of the extent of BMI reduction [27]. Despite the moderate BMI-stabilizing effect in our current series, most of the metabolic parameters either improved significantly or at least showed a trend towards improvement. Data on non-HDL cholesterol, which could have served as an additional metabolic predictor of hepatic injury [28], unfortunately was not available. A larger weight loss effect might have helped to establish a link between improvement of ELF and TE and weight loss parameters even more clearly. In adults, several lifestyle-intervention programs linked weight loss to an improvement in histological inflammation and partially in fibrosis [29]. In children, several trials have shown improvement of biochemical parameters such as ALT after BMI stabilisation, but only one trial exists that examined the effects of weight loss on histological changes [26]. The average weight loss seen in this trial was bigger than what we observed in our cohort. We demonstrated elevated markers of hepatic fibrosis in obese children even in the absence of elevated transaminases, with a normalisation of the mentioned markers after moderate BMI stabilisation. The changes in TE and ELF observed in

our cohort might reflect true histological improvement. Our findings suggest that the success and influence of therapeutic intervention on obesity-related comorbidities could potentially be monitored noninvasively. The fact that we found a normalization of ELF and TE despite the small effects on BMI supports the statement that every little step of weight loss improves hepatic health, even if complete BMI normalization cannot be reached. This statement could potentially be used to support patient motivation.

5. Conclusion

ELF and TE can detect hepatic changes suggestive of NAFLD in obese children even when transaminases are normal. ELF and TE could therefore help to select children that warrant further surveillance, even after the end of a lifestyle-intervention program, and might need to undergo more invasive diagnostic measures in the future. A structured lifestyle-intervention program led to normalisation of liver stiffness and ELF results in association with a reduction in BMI centile and BMI-SDS. ELF and TE could therefore serve as monitoring tools for therapeutic intervention in children and adolescents with NAFLD or NASH.

Abbreviations

BMI:	Body mass index
ELF:	Enhanced liver fibrosis panel
NAFLD:	Nonalcoholic fatty liver disease
NASH:	Nonalcoholic steatohepatitis
TE:	Transient elastography
HA:	Hyaluronic acid
PIIINP:	Amino-terminal propeptide of type III collagen
TIMP-1:	Tissue metalloproteinase-1
WC:	Waist circumference
HOMA:	Homeostasis model assessment
WHtR:	Waist-to-height ratio.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Authors' Contribution

Imeke Goldschmidt and André Di Nanni contributed equally.

Acknowledgment

This work was supported by a grant from the German Federal Ministry of Education and Research (Reference no. 01EO0802) for Imeke Goldschmidt.

References

- [1] E. D'Adamo, N. Santoro, and S. Caprio, "Metabolic syndrome in pediatrics: old concepts revised, new concepts discussed," *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, vol. 43, no. 5, pp. 114–123, 2013.

- [2] V. Giorgio, F. Prono, F. Graziano, and V. Nobili, "Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets," *BMC Pediatrics*, vol. 13, no. 1, article 40, 2013.
- [3] N. J. Barshop, C. B. Sirlin, J. B. Schwimmer, and J. E. Lavine, "Review article: epidemiology, pathogenesis and potential treatments of paediatric non-alcoholic fatty liver disease," *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, vol. 28, no. 1, pp. 13–24, 2008.
- [4] A. E. Feldstein, P. Charatcharoenwithaya, S. Treeprasertsuk, J. T. Benson, F. B. Enders, and P. Angulo, "The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years," *Gut*, vol. 58, no. 11, pp. 1538–1544, 2009.
- [5] R. S. Strauss, S. E. Barlow, and W. H. Dietz, "Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents," *The Journal of Pediatrics*, vol. 136, no. 6, pp. 727–733, 2000.
- [6] C. Carter-Kent, E. M. Brunt, L. M. Yerian et al., "Relations of steatosis type, grade, and zonation to histological features in pediatric nonalcoholic fatty liver disease," *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 52, no. 2, pp. 190–197, 2011.
- [7] S. U. Kim, G. H. Choi, W. K. Han et al., "What are 'true normal' liver stiffness values using FibroScan?: a prospective study in healthy living liver and kidney donors in South Korea," *Liver International*, vol. 30, no. 2, pp. 268–274, 2010.
- [8] H. R. Yang, "Noninvasive diagnosis of pediatric nonalcoholic fatty liver disease," *Korean Journal of Pediatrics*, vol. 56, no. 2, pp. 45–51, 2013.
- [9] N. Alkhoury, E. Sedki, A. Alisi et al., "Combined paediatric NAFLD fibrosis index and transient elastography to predict clinically significant fibrosis in children with fatty liver disease," *Liver International*, vol. 33, no. 1, pp. 79–85, 2013.
- [10] N. Alkhoury, C. Carter-Kent, R. Lopez et al., "A combination of the pediatric NAFLD fibrosis index and enhanced liver fibrosis test identifies children with fibrosis," *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 9, no. 2, pp. 150.e1–155.e1, 2011.
- [11] A. E. Feldstein, N. Alkhoury, R. de Vito, A. Alisi, R. Lopez, and V. Nobili, "Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children," *The American Journal of Gastroenterology*, vol. 108, no. 9, pp. 1526–1531, 2013.
- [12] V. Nobili, F. Vizzutti, U. Arena et al., "Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis," *Hepatology*, vol. 48, no. 2, pp. 442–448, 2008.
- [13] V. Nobili, J. Parkes, G. Bottazzo et al., "Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease," *Gastroenterology*, vol. 136, no. 1, pp. 160–167, 2009.
- [14] P. Vajro, S. Lenta, P. Socha et al., "Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN hepatology committee," *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 54, no. 5, pp. 700–713, 2012.
- [15] D. M. Lebensztejn, A. Wierzbicka, P. Socha et al., "Cytokeratin-18 and hyaluronic acid levels predict liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease," *Acta Biochimica Polonica*, vol. 58, no. 4, pp. 563–566, 2011.
- [16] I. Goldschmidt, C. Streckenbach, C. Dingemann et al., "Application and limitations of transient liver elastography in children," *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 57, no. 1, pp. 109–113, 2013.
- [17] G. Rodríguez, S. Gallego, C. Breidenassel, L. A. Moreno, and F. Gottrand, "Is liver transaminases assessment an appropriate tool for the screening of non-alcoholic fatty liver disease in at risk obese children and adolescents?" *Nutricion Hospitalaria*, vol. 25, no. 5, pp. 712–717, 2010.
- [18] J. B. Schwimmer, K. P. Newton, H. I. Awai et al., "Paediatric gastroenterology evaluation of overweight and obese children referred from primary care for suspected non-alcoholic fatty liver disease," *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, vol. 38, no. 10, pp. 1267–1277, 2013.
- [19] P. Mofrad, M. J. Contos, M. Haque et al., "Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values," *Hepatology*, vol. 37, no. 6, pp. 1286–1292, 2003.
- [20] R. Lichtinghagen, D. Pietsch, H. Bantel, M. P. Manns, K. Brand, and M. J. Bahr, "The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: normal values, influence factors and proposed cut-off values," *Journal of Hepatology*, vol. 59, no. 2, pp. 236–242, 2013.
- [21] L. Castéra, J. Foucher, P.-H. Bernard et al., "Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations," *Hepatology*, vol. 51, no. 3, pp. 828–835, 2010.
- [22] R. P. Myers, G. Pomier-Layrargues, R. Kirsch et al., "Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients," *Hepatology*, vol. 55, no. 1, pp. 199–208, 2012.
- [23] S. DeVore, R. Kohli, K. Lake et al., "A multidisciplinary clinical program is effective in stabilizing BMI and reducing transaminase levels in pediatric patients with NAFLD," *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 57, no. 1, pp. 119–123, 2013.
- [24] C.-L. Wang, L. Liang, J.-F. Fu et al., "Effect of lifestyle intervention on non-alcoholic fatty liver disease in Chinese obese children," *World Journal of Gastroenterology*, vol. 14, no. 10, pp. 1598–1602, 2008.
- [25] V. Nobili, C. Carter-Kent, and A. E. Feldstein, "The role of lifestyle changes in the management of chronic liver disease," *BMC Medicine*, vol. 9, article 70, 2011.
- [26] V. Nobili, M. Manco, R. Devito et al., "Lifestyle intervention and antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial," *Hepatology*, vol. 48, no. 1, pp. 119–128, 2008.
- [27] A. Jablonka, H. Sassmann, K. Harvalos, E. Sadeghian, K. Schnell, and W. von Schuetz, "Quality of life in obese children and adolescents—from the parent's perspective before and after participation in an interdisciplinary educational programme," *Adipositas*, vol. 7, pp. 253–258, 2013.
- [28] N. Alkhoury, K. Eng, R. Lopez, and V. Nobili, "Non-high-density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) levels in children with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)," *SpringerPlus*, vol. 3, article 407, 2014.
- [29] C. Thoma, C. P. Day, and M. I. Trenell, "Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review," *Journal of Hepatology*, vol. 56, no. 1, pp. 255–266, 2012.

Diskussion

Im Positionspapier der ESPGHAN werden zur Diagnosestellung einer NAFLD/NASH bei übergewichtigen Kindern und Heranwachsenden neben der klinischen Untersuchung die Abdomensonografie, Leberfunktionstests, das Alter des Kindes, Vorhandensein weiterer Risikofaktoren wie z.B. einer Insulinresistenz und nicht zuletzt der Ausschluss anderer Differentialdiagnosen herangezogen²⁴.

Die Bestimmung der Transaminasen, insbesondere der Alanin-Aminotransferase (ALT), wird oft als NAFLD-Screening-Instrument verwendet. Die ALT ist bei 10% der Kinder- und Jugendlichen mit einem BMI \geq 95. Perzentile erhöht²⁵. Andererseits muss eine NAFLD nicht in jedem Fall mit einer ALT Erhöhung einhergehen^{16,48}. Bei einer exklusiv auf der ALT-Erhöhung basierenden Screening-Methode entsteht eine diagnostische Lücke, durch die eine Reihe von Kindern hindurch rutschen würde. Es besteht das Risiko, dass jene erst im Rahmen einer NASH, Fibrose oder gar einer Leberzirrhose detektiert werden würden. Bereits 2004 wurde erstmals die Verbindung zwischen progressivem Verlauf der NAFLD und der als kryptogen bezeichneten Leberzirrhose beschrieben^{49,50}.

Es stellt sich die Frage, ob nicht-invasive Diagnostika wie die transiente Elastografie (TE) und der ELF Test in der Lage sind, diese Lücke bei adipösen Kindern zu schließen. Vor diesem Hintergrund haben wir in der vorliegenden Arbeit untersucht, wie häufig bei adipösen Kindern auffällige Werte in TE und ELF Test gemessen werden, wenn ansonsten keine Befunde vorliegen, die zwingend eine weitere Abklärung bezüglich NAFLD notwendig machen. Bei dem Großteil der von uns untersuchten Kinder lagen in der Tat die Transaminasen innerhalb des Referenzbereiches.

Zusätzlich wollten wir untersuchen, ob eine Verbesserung des BMIs bzw. der aus ihm abgeleiteten Größen (BMI-Perzentile, BMI-SDS) einen positiven Effekt auf die erhobenen nicht-invasiven Daten hat und somit den übergeordneten positiven Effekt eines Gewichtsverlustes auf die Leber-Gesundheit widerspiegeln kann.

Wir konnten zeigen, dass zu Beginn unserer Erhebung fast ein Drittel der Probanden eine erhöhte Lebersteifheit aufwies. Der Median lag bei 5.9 kPa (min. 3.4 und max. 8.3kPa). In untersuchten erwachsenen NAFLD-Studienpopulationen wurden Werte zwischen 5 kPa und 7kPa als auffällig gewertet, zudem wurden Cut offs für das Vorhandensein einer signifikanten Fibrose mit 7.4 kPa³⁹ respektive 8.6 kPa³⁶ publiziert. Bei gesunden Kindern liegt die Lebersteifheit im Mittel bei 4.5 kPa, als obere Normgrenze wird 6.5 kPa angegeben⁵¹. Limitierend müssen wir erwähnen, dass eine Differenzierung insbesondere der niedrigen Fibrosegrade mittels TE nicht exakt möglich scheint^{36,39}. Eine genaue Zuordnung der erhöht gemessenen Werte zu einem bestimmten Fibrosegrad ist somit nicht möglich. Ein Vergleich mit einer histopathologischen Untersuchung wäre optimal, jedoch in diesem Fall aus ethischen Gründen nicht vertretbar gewesen. In jedem Fall aber lässt sich sagen, dass die in der Probanden-Population gemessenen Werte nicht nur im Vergleich zu publizierten Referenzwerten, sondern auch im Vergleich zur von uns untersuchten nicht-adipösen

Kontrollgruppe erhöht waren, was einen Einfluss der Adipositas auf die Lebersteifigkeitserhöhung nahelegt.

Bei einem Fünftel unserer Probanden detektierten wir einen pathologischen ELF Test, welcher ebenfalls eine Fibrosierung anzeigen kann^{36,40}. Für den ELF Test gibt es bisher keine Referenzbereiche für Kinder und Jugendliche. Bei Erwachsenen scheint die Höhe des Scores abhängig vom Alter und Geschlecht zu sein. Das männliche Geschlecht sowie ein Alter >30 Jahre gehen dabei mit höheren Werten einher⁵². Bedauerlicherweise ist unsere Kohorte zu klein, um daraus alters- und geschlechtsspezifische Perzentilen abzuleiten. Die durch Valerio Nobili et al. untersuchte und biopsie-validierte Studienpopulation in „Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease“ führt einen Cut off von 9.28 für das Vorhandensein einer Fibrose an⁴⁰. Bei ähnlichen Populationsmerkmalen (in Bezug auf Alter und Geschlecht) erlaubten wir uns, diesen Wert auf unsere Studie zu übertragen. Bei einem Median von 9.0 und einer Range von min. 7.87 bis max. 9.60 ergaben sich hierbei für 21% der untersuchten Probanden ELF Test Ergebnisse, welche eine Fibrose nahelegten.

Letztendlich können wir davon ausgehen, dass die TE und der ELF Test in der Lage waren, eine Adipositas-bedingte Leberschädigung nachzuweisen, welche sonst unbemerkt geblieben wäre.

Im Vergleich zum Anfang [n=8 (28%)] wiesen nach dem 12-monatigen Interventionsprogramm nur noch 2 Kinder (9%) erhöhte TE Ergebnisse auf. Auch der ELF Test verbesserte sich signifikant. Dabei muss einschränkend die geringe Anzahl gepaarter Daten bezüglich der TE diskutiert werden. Vielfach wurde in der internationalen Fachliteratur über die Fallstricke der technischen Durchführbarkeit des FibroScans an übergewichtigen Populationen berichtet^{51,53}. Um die Güte unserer Untersuchungen zu gewährleisten, verwendeten wir nur jene Daten, welche unseren Qualitätsanforderungen (mindestens 8 unmittelbar aufeinander folgende valide Messungen, Interquartilabstand <30%, vergleiche auch Subjects and Methods) entsprachen. Diese Qualitätsanforderungen werden gerade bei Patienten mit Adipositas oft nicht erreicht. Wir verwendeten zudem zu Beginn sowie in der Folgeuntersuchung ausschließlich eine M-Sonde, um die in einigen Arbeiten berichteten Unterschiede bezüglich der Lebersteifigkeit bei der Verwendung unterschiedlicher Sonden zu eliminieren^{51,54}. Eine größere Ausbeute hätte sich eventuell bei der Verwendung einer XL-Sonde anstatt der von uns verwendeten M-Sonde ergeben. Bedauerlicherweise stand diese zum Zeitpunkt der Erhebung noch nicht zur Verfügung. Vermutlich hätte die Verbesserung des TE Ergebnisses in Assoziation zur positiven Gewichtsmodifikation durch eine numerisch umfangreichere gepaarte Datenlage deutlicher herausgearbeitet werden können.

Die Erfolgsraten von Lebensstil-Interventionsprojekten sind im Allgemeinen eher gering⁵⁵⁻⁵⁸. Auch in unserem Fall blieben viele Kinder weit im übergewichtigen Spektrum. Trotz des mäßigen BMI-Reduktions- bzw. Stabilisationseffektes konnten wir einen klaren Trend zur Optimierung der von uns registrierten metabolischen Parameter dokumentieren. Es bleibt

anzunehmen, dass sich ein durchschlagenderer Erfolg der Gewichtsabnahme auch noch deutlicher in den TE und ELF Untersuchungen widerspiegelt hätte, denn in der Erwachsenenmedizin wurden bereits mehrere Populationen untersucht, bei denen eine Verbindung zwischen Gewichtsverlust und verbessertem histopathologischem Korrelat in Bezug auf Entzündung und Fibrose gezeigt werden konnte⁵⁹. In der Pädiatrie gibt es einige Arbeiten, in denen ein positiver Effekt auf biochemische Marker wie die Transaminasen beobachtet werden konnte. Wir fanden jedoch nur eine Publikation, welche auch feingewebliche Veränderungen durch eine BMI-Stabilisation nachzuweisen vermochte⁵⁸. Der durchschnittliche Gewichtsverlust in dieser Studie war allerdings größer als der bei uns beobachtete.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es uns gelungen ist, erhöhte Ergebnisse der von uns gewählten nicht-invasiven Marker einer Leberfibrose an unseren übergewichtigen Probanden zu beschreiben, obwohl ihre Transaminasen überwiegend innerhalb des Referenzbereiches lagen. Trotz des nur moderaten Einflusses des Interventionsprojektes auf das Gewicht der Teilnehmer war es uns möglich, eine signifikante Verbesserung von Lebersteifheit und ELF Test in der Folgerhebung zu demonstrieren. Die übergewichtige Kohorte unterschied sich zuletzt nicht mehr signifikant von unserer normgewichtigen Kontroll-Kohorte. Die Differenz zwischen prä- und post-interventionem bezüglich der TE und ELF vermag im besten Falle gar eine reale Verbesserung der Histopathologie zu reflektieren. Diese Beobachtung eröffnet die Möglichkeit eines Monitorings in Bezug auf die Lebergesundheit während des Gewichtsreduktionsprozesses, könnte folglich so der Patientenmotivation dienen und unterstreicht einen positiven Effekt der Gewichtsmodifikation auf die Gesundheit, auch wenn eine BMI-Normalisation nicht erreichbar zu sein scheint.

Zusammenfassung

Die NAFLD ist in der industrialisierten Welt bereits heute die häufigste chronische Lebererkrankung im Kindes- und Jugendalter. Als hepatologisches Korrelat des metabolischen Syndroms ist anzunehmen, dass die Prävalenzraten wie in den letzten Jahren verzeichnet auch in Zukunft weiter steigen werden. Dabei kann das Ausmaß der Leberaffektion von einfacher Steatose über die nicht-alkoholische Leberentzündung mit konsekutiver Fibrose bis hin zur Leberzirrhose und finalem Leberversagen mit erforderlicher Lebertransplantation reichen.

Nicht-invasive Tools zur Diagnostik einer NAFLD wurden bereits umfangreich an Biopsie-kontrollierten Kohorten untersucht. Wir gingen einen Schritt weiter und evaluierten die Prävalenzen von Auffälligkeiten der transienten Elastografie und dem ELF Test an einer übergewichtigen Population, welche keine sicheren klinischen Hinweise auf eine Lebererkrankung aufwies. Hierdurch sollte der potentielle Nutzen dieser nicht-invasiven Instrumente für das Screening auf eine NAFLD untersucht werden. Zudem beobachteten wir den Effekt auf die Ergebnisse dieser Marker nach einer 12-monatigen Lebensstilintervention und damit assoziierter BMI-Stabilisierung.

Insgesamt wurden 39 Kinder und Jugendliche, davon 17 männlich, 22 weiblich im medianen Alter von 12.3 (min. 7.6, max. 17.4) Jahren mittels TE und ELF Test untersucht. Alle Teilnehmer wurden zu Beginn und nach dem Programm untersucht. Wir verglichen die erhobenen Daten mit denen aus nicht adipösen Kontroll-Kohorten.

Wir konnten zeigen, dass die TE und ELF Ergebnisse unserer Studienpopulation im Vergleich zu den Kontroll-Kohorten signifikant erhöht waren (TE: 5.9 (3.4–8.3) kPa versus 4.45 (2.45–8.85) kPa, $p < 0.01$; ELF: 9.0 (7.87–9.60) versus 8.6 (7.33–11.52), $p = 0.033$). Bemerkenswert war zudem, dass bei allen Kindern mit auffälligen Tests die Transaminasen, als häufig verwendetes Screening Tool für eine Leberaffektion, normwertig waren. Nach der Intervention fanden wir bezüglich TE und ELF keinerlei Unterschiede zwischen den Kohorten mehr. Die Verbesserung der Werte war dabei signifikant mit der Reduktion der BMI-Perzentile assoziiert ($p = 0.001$).

Es ist anzunehmen, dass die TE und der ELF Test in der Lage waren, eine Adipositas-assoziierte Leberaffektion im Sinne einer NAFLD auch bei normwertigen Transaminasen nachzuweisen. Zudem scheinen diese nicht-invasiven Marker als (Leber-) Monitoring in Bezug auf eine NAFLD dienlich zu sein. Eine BMI-Stabilisation normalisierte TE und ELF Test Ergebnisse und unterstreicht somit den günstigen Effekt eines Lebensstil-Interventionsprojektes auf die Lebergesundheit.

Abkürzungen / Abbildungen

ALT	Alaninaminotransferase
BMI	Body Mass Index
ELF	Enhanced Liver Fibrosis
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition
HA	Hyaluronsäure
IL-1 beta	Interleukin-1 beta
IOTF	International Obesity Task Force
KiCK	Kindergewicht intensiv Coaching im Krankenhaus
kPa	kilo Pascal
NAFL	Non-alcoholic fatty liver
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease
NAS	NAFLD activity score
NASH	Non-alcoholic steatohepatitis
PIIINP	Procollagen III N-Terminal Propeptide
SDS	Standard Deviation Score
TE	Transiente Elastografie
TIMP-1	Tissue Inhibitor of Metalloprotease 1
TNF-alpha	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
WHO	World Health Organization

Abbildung 1 Übersicht adipositas assoziierter Komorbiditäten modifiziert nach ¹

Literaturverzeichnis

1. Han, J. C., Lawlor, D. A. & Kimm, S. Y. S. Childhood Obesity – 2010 : Progress and Challenges. *Lancet***375**, 1737–1748 (2010).
2. Karnik, S. & Kanekar, A. Childhood obesity: a global public health crisis. *Int. J. Prev. Med.***3**, 1–7 (2012).
3. Zimmermann, M. B., Gübeli, C., Püntener, C. & Molinari, L. Overweight and obesity in 6 – 12 year old children in Switzerland. *Swiss Med. Wkly.* 523–529 (2004).
4. Bundred, P., Kitchiner, D. & Buchan, I. Prevalence of overweight and obese children between 1989 and 1998 : population based series of cross sectional studies. *Br. Med. J.***322**, (2001).
5. Baratta, R., Degano, C., Leonardi, D., Vigneri, R. & Frittitta, L. High prevalence of overweight and obesity in 11-15-year-old children from Sicily. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.***16**, 249–255 (2006).
6. Fredriks, A. M. *et al.* Height, weight, body mass index and pubertal development references for children of Moroccan origin in The Netherlands. *Acta Paediatr.***93**, 817–824 (2004).
7. Sarlio-Lähteenkorva, S., Lissau, I. & Lahelma, E. The social patterning of relative body weight and obesity in Denmark and Finland. *Eur. J. Public Health***16**, 36–40 (2006).
8. Kurth, B.-M. & Schaffrath Rosario, A. (Robert K.-I. Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt* 643–652 (2010). doi:10.1007/s00103-010-1083-2
9. Bjørge, T., Engeland, A., Tverdal, A. & Smith, G. D. Body mass index in adolescence in relation to cause-specific mortality: a follow-up of 230,000 Norwegian adolescents. *Am. J. Epidemiol.***168**, 30–7 (2008).
10. Daniels, S. R. Complications of obesity in children and adolescents. *Int. J. Obes.***33 Suppl 1**, S60–5 (2009).
11. Owen, C. G. *et al.* Is body mass index before middle age related to coronary heart disease risk in later life? Evidence from observational studies. *Int. J. Obes. (Lond)***33**, 866–77 (2009).
12. Gilliland, F. D. *et al.* Obesity and the risk of newly diagnosed asthma in school-age children. *Am. J. Epidemiol.***158**, 406–15 (2003).
13. Björnsson, E., Aldenborg, F., Jerlstad, P., Rundström, K. & Friis-Liby, I. High Prevalence of Metabolic Complications in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease ". *Scand. J. Gastroenterol.* 864–869 (2004). doi:10.1080/00365520410006431
14. Fu, J. *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease : An early mediator predicting metabolic syndrome in obese children ? *World J. Gastroenterol.***17**, 735–742 (2011).
15. Gupta, R. *et al.* The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in obese children. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.***24**, 907–11 (2011).
16. Giorgio, V., Prono, F., Graziano, F. & Nobili, V. Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. *BMC Pediatr.***13**, 40 (2013).
17. Barshop, N. J., Sirlin, C. B., Schwimmer, J. B. & Lavine, J. E. Review article: epidemiology, pathogenesis and potential treatments of paediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.***28**, 13–24 (2008).
18. Feldstein, a E. *et al.* The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut***58**, 1538–44 (2009).
19. Chalasani, N. *et al.* The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American

- College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol***107**, 811–826 (2012).
20. Schwimmer, J. B. *et al.* Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology***42**, 641–9 (2005).
 21. Weiß, J., Rau, M. & Geier, A. Non-alcoholic fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. *Dtsch. Ärzteblatt Int.***111**, 447–52 (2014).
 22. Tilg, H. & Hotamisligil, G. S. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology***131**, 934–45 (2006).
 23. Lebensztejn, D. M. *et al.* Cytokeratin-18 and hyaluronic acid levels predict liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Biochim. Pol.***58**, 563–6 (2011).
 24. Vajro, P. *et al.* Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***54**, 700–13 (2012).
 25. Strauss, R. S., Barlow, S. E. & Dietz, W. H. Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents. *J. Pediatr.***136**, 727–33 (2000).
 26. Joseph, A. E., Saverymuttu, S. H., al-Sam, S., Cook, M. G. & Maxwell, J. D. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin. Radiol.***43**, 26–31 (1991).
 27. Dasarathy, S. *et al.* Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J. Hepatol.***51**, 1061–7 (2009).
 28. Saadeh, S. *et al.* The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology***123**, 745–50 (2002).
 29. Shannon, A. *et al.* Ultrasonographic quantitative estimation of hepatic steatosis in children With NAFLD. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***53**, 190–5 (2011).
 30. Roberts, E. A. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a ‘growing’ problem? *J. Hepatol.***46**, 1133–42 (2007).
 31. Kleiner, D. E. *et al.* Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology***41**, 1313–21 (2005).
 32. Merriman, R. B. *et al.* Correlation of paired liver biopsies in morbidly obese patients with suspected nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology***44**, 874–80 (2006).
 33. Vuppalanchi, R. *et al.* Effects of liver biopsy sample length and number of readings on sampling variability in nonalcoholic Fatty liver disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.***7**, 481–6 (2009).
 34. Kim, S. U. *et al.* What are ‘true normal’ liver stiffness values using FibroScan?: a prospective study in healthy living liver and kidney donors in South Korea. *Liver Int.***30**, 268–74 (2010).
 35. Yang, H. R. Noninvasive diagnosis of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J. Pediatr.***56**, 45–51 (2013).
 36. Alkhoury, N. *et al.* Combined paediatric NAFLD fibrosis index and transient elastography to predict clinically significant fibrosis in children with fatty liver disease. *Liver Int.***33**, 79–85 (2013).
 37. Alkhoury, N. *et al.* A combination of the pediatric NAFLD fibrosis index and enhanced liver fibrosis test identifies children with fibrosis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.***9**, 150–5 (2011).
 38. Feldstein, A. E. *et al.* Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children. *Am. J. Gastroenterol.***108**, 1526–31 (2013).
 39. Nobili, V. *et al.* Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of

- fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology***48**, 442–8 (2008).
40. Nobili, V. *et al.* Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology***136**, 160–7 (2009).
 41. Castéra, L. *et al.* Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology***128**, 343–50 (2005).
 42. de Lédinghen, V. *et al.* Liver stiffness measurement in children using FibroScan: feasibility study and comparison with Fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***45**, 443–50 (2007).
 43. Gaia, S. *et al.* Reliability of transient elastography for the detection of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis. *J. Hepatol.***54**, 64–71 (2011).
 44. Nobili, V. *et al.* Transient elastography for assessment of fibrosis in paediatric liver disease. *Pediatr. Radiol.***41**, 1232–8 (2011).
 45. Rosenberg, W. M. C. *et al.* Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology***127**, 1704–13 (2004).
 46. Guha, I. N. *et al.* Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology***47**, 455–60 (2008).
 47. Xie, Q. *et al.* The performance of enhanced liver fibrosis (ELF) test for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *PLoS One***9**, e92772 (2014).
 48. Mofrad, P. *et al.* Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology***37**, 1286–92 (2003).
 49. Caldwell, S. H. & Crespo, D. M. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatol.***40**, 578–84 (2004).
 50. Browning, J. D., Kumar, K. S., Saboorian, M. H. & Thiele, D. L. Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis. *Am. J. Gastroenterol.***99**, 292–8 (2004).
 51. Goldschmidt, I. *et al.* Application and limitations of transient liver elastography in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***57**, 109–13 (2013).
 52. Lichtigagen, R. *et al.* The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: normal values, influence factors and proposed cut-off values. *J. Hepatol.***59**, 236–42 (2013).
 53. Castéra, L. *et al.* Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology***51**, 828–35 (2010).
 54. Myers, R. P. *et al.* Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients. *Hepatology***55**, 199–208 (2012).
 55. DeVore, S. *et al.* A multidisciplinary clinical program is effective in stabilizing BMI and reducing transaminase levels in pediatric patients with NAFLD. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***57**, 119–23 (2013).
 56. Wang, C.-L. *et al.* Effect of lifestyle intervention on non-alcoholic fatty liver disease in Chinese obese children. *World J. Gastroenterol.***14**, 1598–602 (2008).
 57. Nobili, V., Carter-Kent, C. & Feldstein, A. E. The role of lifestyle changes in the management of chronic liver disease. *BMC Med.***9**, 70 (2011).
 58. Nobili, V. *et al.* Lifestyle intervention and antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Hepatology***48**, 119–28 (2008).
 59. Thoma, C., Day, C. P. & Trenell, M. I. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. *J. Hepatol.***56**, 255–66 (2012).

Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 6 und 7 der Promotionsordnung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Hochschule Hannover zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel:

„Improvement of BMI after Lifestyle Intervention is Associated with Normalisation of Elevated ELF Score and Liver Stiffness in Obese Children“

in der Klinik für Pädiatrische Nieren-, Leber- und Stoffwechselerkrankungen

unter Betreuung von: Prof. Dr. med. Ulrich Baumann
mit der Unterstützung durch: Dr. med. Imeke Goldschmidt

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsverfahren ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Insbesondere habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Weiterhin versichere ich, dass ich den beantragten Titel bisher noch nicht erworben habe.

Ergebnisse der Dissertation wurden in dem Publikationsorgan **BioMed Research International**, vol. 2015, Article ID 457473, 8 pages, 2015. doi:10.1155/2015/457473 veröffentlicht.

Rhauderfehn den 06.09.2016

André Di Nanni