



*Svenska föreningen för pediatrik
gastroenterologi, hepatologi och nutrition*

Delförening i Svenska Barnläkarföreningen

2021-10-28

UTREDNING OCH HANDLÄGGNING AV FETTLEVERSJKDOM HOS BARN OCH UNGDOMAR MED ÖVERVIKT OCH FETMA

*Arbetsgruppen för fettleversjukdom hos barn och ungdomar
Svenska Barnläkarföreningens delförening för gastroenterologi,
hepatologi och nutrition - SPGHN*

Version 1.0

Innehållsförteckning

Innehållsförteckning	2
Definitioner och terminologi	3
Bakgrund och syfte	4
Riskfaktorer	5
Differentialdiagnoser	6
Utredning	6
<i>Laboratorieanalyser</i>	6
<i>Ultraljud</i>	8
<i>Leverbiopsi</i>	9
<i>Scoringsystem</i>	9
<i>Elastografi (TE)</i>	10
<i>Biomarkörer</i>	10
Algoritm	11
Referenser	12

Arbetsgruppens medlemmar:

Sara Björck, Med dr, Överläkare, Barn- och ungdomsmedicinska kliniken, Skånes Universitetssjukhus

Thomas Casswall, Docent, Överläkare, Sektionen för pediatrik gastroenterologi, hepatologi och nutrition, ME1, Astrid Lindgrens Barnsjukhus, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm.

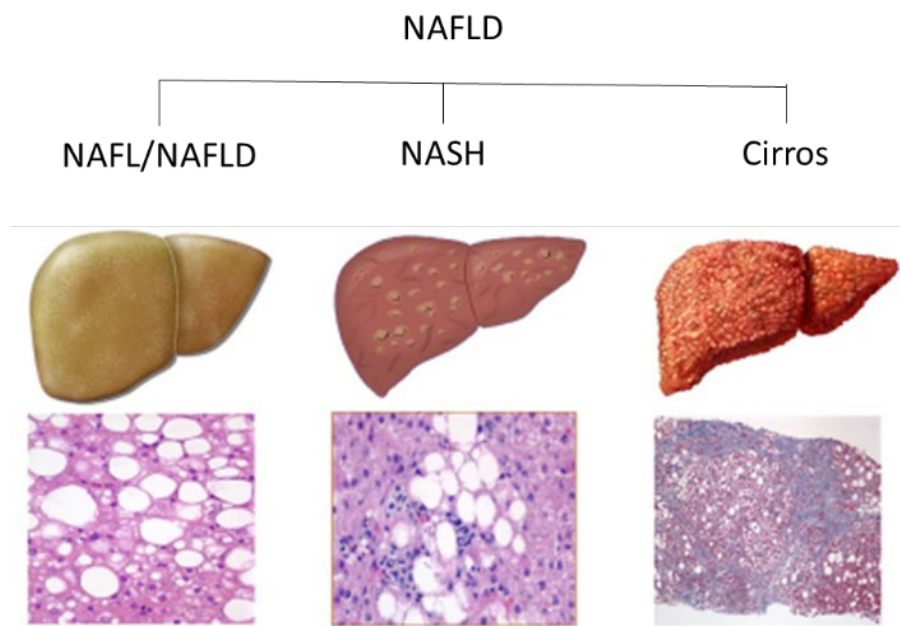
Carola Kullberg-Lindh, Med dr, Överläkare, Barn- och Ungdomsmottagningen, Lerum

Marianne Malmquist, Överläkare, Barn- och ungdomskliniken, Växjö

Definitioner och terminologi

NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) används som övergripande term för tillstånd med leversteatos (inlagring av triglycerider i > 5% av hepatocyterna) utan annan bakomliggande sjukdom. Tillståndet beskriver ett spektrum av leverpatologi, dels den mildare formen av fettlever - NAFL (kallas ibland för NAFLD), dels fettlever med olika grad av inflammation - NASH (non-alcoholic steatohepatitis). Vid NASH föreligger risk för utveckling av fibros och i förlängningen cirros med behov av levertransplantation (1). Huruvida fibros utan steatohepatit kan övergå i cirros är inte klarlagt.

NASH förekommer i en adult och en pediatrik fenotyp. Sjukdomstillstånden kan endast åtskiljas av den histopatologiska bilden (1).



Dr. John M. Vierling, youtube

Figur 1. Sjukdomsmanifestationer vid NAFLD.

Helt nyligen har en internationell expertpanel lagt fram ett förslag till ramverk för pediatrika fettlevversjukdomar med en åldersanpassad definition av *metabolic dysfunction-associated fatty liver disease* (MAFLD), baserad på ålder och kön. Man föreslår ett skifte från begreppet NAFLD till MAFLD och med detta en övergång från en exkluderande (non-alcoholic) och mer stigmatiserande terminologi till mer inkluderande kriterier där även fettlevversjukdom av andra orsaker än obesitas ingår. Man menar att det skulle ge ökad medvetenhet om tillståndet som

anses vara underdiagnosticerat hos barn (1) och underlätta diagnostik och multidisciplinär hantering av patienterna (2).

Bakgrund och syfte

I takt med ökande förekomst av obesitas hos barn och ungdomar, varvid - oftast asymtomatisk-leverpåverkan inte är ovanlig, behövs riktlinjer för hur och i vilken takt utredning och uppföljning av leverpåverkan hos dessa barn och ungdomar bör ske.

NAFLD är globalt sett den vanligaste kroniska leversjukdomen hos barn och utveckling till avancerad fibros kan ses t.o.m. hos barn yngre än 10 år (3). Det finns i nuläget inte någon tillförlitlig enskild markör för NAFLD eller NASH. Diagnostiken och riskbedömningen av leverpåverkan grundar sig därför på en sammanvägning av olika riskfaktorer, kliniska fynd och undersökningar.

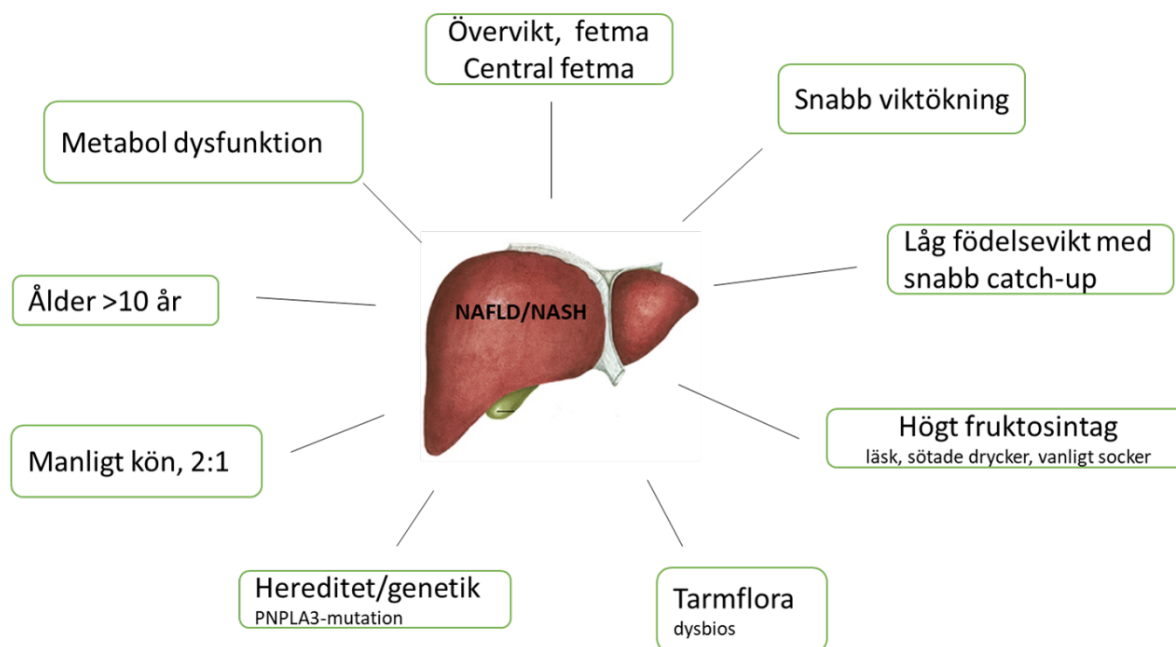
Viktreduktion är i dagsläget den enda effektiva behandlingen. Det är visat att viktreduktion kan ge såväl minskad leversteatos som steatohepatit, d.v.s. tillstånden kan vara reversibla (4). Vårdgivare behöver därför ett bra underlag för information till patient och familj för att kunna motivera till livsstilsförändringar (5, 6). Progress av NAFLD har beskrivits ske sekventiellt; steatos → steatohepatit/inflammation → fibros → cirros, men vilka som löper risk att utveckla fibros och cirros påverkas av genetik och andra faktorer och är svårt att förutsäga (7, 8). I en svensk studie från 2020 anges dödligheten för barn och ungdomar med biopsiverifierad NAFLD över en 20-årsperiod vara ungefär 6 gånger högre än i en kontrollgrupp. De vanligaste orsakerna till överdödligheten var cancer, leversjukdom samt kardiometabol sjukdom (9).

Algoritmen (sidan 11) är ett försök att sammanfatta en rimlig utredningsgång vid misstänkt NAFLD hos barn och ungdomar. Den bygger på ESPGHAN's (1) och NASPGHAN's (10) algoritmer med en viss anpassning till svenska förhållanden. Syftet är att identifiera NASH/avancerad fibros vid NAFLD samt att utesluta andra eller bidragande orsaker till leverpåverkan. Målsättningen är att underlätta den primära handläggningen samt att tydliggöra när leverkunnig barnläkare/barnhepatolog bör kontaktas för diskussion om fortsatt diagnostik.

Det yttersta syftet med detta PM är att identifiera individer med risk för avancerad fettleversjukdom och därmed ge en möjlighet att, i tid, kunna vända förloppet.

Riskfaktorer

NAFLD kan betraktas som en levermanifestation vid metabol dysfunktion (2, 4). Prevalensen varierar i olika studier men anges för barn och ungdomar med fetma till 30-50% (3, 11, 12). Det är ungefär dubbelt så vanligt hos pojkar som hos flickor (3, 10). Förstagsgradsläktingar till personer med NAFLD har högre risk att insjukna jämfört med befolkningen i allmänhet även i frånvaro av övervikt (13, 14). Högt intag av fruktos är associerat med NAFLD och NASH (15). Intaget av fruktos vid dessa tillstånd hos barn korrelerar starkt med ALAT-nivån oberoende av viktutveckling (16-18). Mutation i *PNPLA3* genen är associerad med högre förekomst av NAFLD och NASH (19), men även ett flertal andra gener har visat sig vara inblandade (20). Tarmfloras roll vid NAFLD är omdebatterad. Dysbios bland annat orsakad av högt fruktosintag (21) har föreslagits bidra till utvecklingen av NAFLD (22-24).



Figur 2. Riskfaktorer vid NAFLD. Metabol dysfunktion baseras på åldersberoende blodtryck och blodfetter samt förekomst av prediabetes/diabetes mellitus typ 2 (2, 25).

Differentialdiagnoser

Alla barn med obesitas och förhöjda transaminaser har inte NAFLD. Ett av huvudsyftena med detta PM är också att underlätta identifieringen av annan leversjukdom än NAFLD hos barn med obesitas. Hos barn över 10 år med obesitas är diagnosen NAFLD sannolikt om ytterligare någon faktor, som ingår i metabol dysfunktion (bukfetma, lågt HDL, högt blodtryck, förhöjt fasteglukos) föreligger (2). Differentialdiagnoser såsom alfa-1-antitrypsinbrist, autoimmun hepatit (AIH) och Wilsons sjukdom skall alltid övervägas. Ju yngre barn (< 10 år) desto större sannolikhet för annan genes till transaminasstegring än NAFLD.

Generella/systemiska /nutritionella	Genetiska/metabola	Ovanliga ärftliga	Läkemedel/droger
Akut systemisk sjukdom	CF och Swachman syndrom	Ahlström syndrom	Östrogen
Akut svält	Wilson's sjukdom	Bardet-Biedel syndrom	Kortikosteroider
Snabb viktörlust/Aorexia nervosa	a-1-antitrypsinbrist	Prader-Willi syndrom	Metotrexat
Total parenteral nutrition	CDG-congenital disorders of glycosylation		Valproat
Fetma/metabolt syndrom; NAFLD	Glykogenos (I och VI)		L-asperginas
Polycystiskt ovarialsyndrom	Lysosomalt surt lipasbrist (LAL-D)		Alkohol
Inflammatorisk tarmsjukdom	Familjära lipoproteinemier		Ecstasy, kokain
Celiaki	Mitokondriella och peroxisomala defekter i		Vissa antidepressiva läkemedel
Nefrotiskt syndrom	fettsyreoxidationen		
Typ 1 diabetes och Mauriac syndrom	Familjär hyperlipoproteinemi		
Sköldkörtelsjukdomar	Lipodystrofi		
Hypotalamus-, hypofyssfjukdomar	Abeta-, hypobetalipoproteinemi		
	Turner syndrom		

Tabell 2. Exempel på differentialdiagnoser vid leversteatos hos barn.

Från ESPGHAN & NASPGHAN guidelines 2012 & 2017

UTREDNING

Laboratorieanalyser

Transaminaser (ASAT, ALAT)

Transaminasstegring förekommer vid många olika tillstånd och sjukdomar både i och utanför levern. I detta PM berör vi transaminasstegring i kombination med obesitas.

ALAT och ASAT tillhör våra viktigaste blodprover för att studera leverpåverkan, men de är ofta otillräckliga för att bedöma graden av leverpåverkan, fibros och inflammation vid NAFLD (26). Eftersom det dock i nuläget inte finns någon bättre enskild analys så får transaminaserna utgöra utgångspunkt i algoritmen, men andra tecken på långt gånge leversjukdom såsom

hypoalbuminemi, trombocytopeni eller splenomegali måste beaktas (1, 27). Referensvärden är beroende av ålder och kön och kan variera mellan olika laboratorier (27). Internationellt anges transaminaser med enheten U/L medan vi i Sverige använder $\mu\text{katal/L}$, (omräkningsfaktor:

$1 \text{ U/L} = 0,017 \mu\text{katal/L}$ och $1 \mu\text{katal/L} = 58,8 \text{ U/L}$).

Övre gränsen för normalvärden (ÖNG) för transaminaser har sänkts och ÖNG för ALAT anges numera till $0,44 \mu\text{kat/L}$ för pojkar och $0,37 \mu\text{kat/L}$ för flickor (28). Det finns inga entydiga rekommendationer i litteraturen avseende vilka nivåer man bör använda sig av för att styra sina åtgärder (28). Pragmatism och lättillgänglighet har därför fått styra oss i den svenska algoritmen.

Eftersom normalgränserna kan variera från laboratorium till laboratorium har vi valt exakta nominella värden utan hänsyn till kön och ålder;

lätt höjning (ytterligare utredning krävs): $\geq 0,8 \mu\text{kat/L}$,

kraftig höjning $\geq 2 \mu\text{kat/L}$ (10).

Väldigt höga transaminaser, ≥ 5 , är mindre vanligt vid obesitasrelaterad NAFLD och man bör då i större utsträckning fundera på annan genes såsom virushepatit, autoimmun hepatit (AIH), läkemedelsutlöst leverskada (DILI) m.fl. (27).

Åtgärder vid misstänkt NAFLD rekommenderas vid transaminasnivåer ≥ 2 gånger ÖNG, dvs $\geq 0,88 \mu\text{kat/L}$ för pojkar och $\geq 0,75 \mu\text{kat/L}$ för flickor (10). I algoritmen (sida 11) har vi valt att avrunda till $0,8 \mu\text{kat/L}$ för alla barn (28).

Övriga blodprover i algoritmen

Kolestatiske markörer: γ -GT, totalt och konjugerat bilirubin, ALP. För att utesluta sjukdomar utgående från gallvägarna. Vid gallgångspåverkan är γ -GT mer specifikt för växande barn än ALP.

Leverfunktionsmarkörer: PK-INR och albumin. Högt PK-INR kan indikera antingen syntesdefekt eller malabsorption. Ett högt värde (>2) som inte svarar på intravenös administrering av K-vitamin indikerar leversvikt.

Hematologiska markörer: **TPK** och även **LPK** kan vara sänkta p.g.a. splenomegali vid portal hypertension.

IgA-transglutaminas: Celiaki är vanligt i Sverige (1/30-1/100) och kan ge upphov till leverpåverkan.

Alfa-1-antitrypsin: Symtom vid alfa-1-antitrypsinbrist (Pi-typ ZZ, SZ) kan debutera i olika åldrar och ge upphov till leversjukdom (29). Det är relativt vanligt i Sverige (1/1,600). Om **alfa-1-antitrypsin** visar ett sänkt värde skickas prov för **Pi-typning** till Klinisk kemi, Labmedicin, Malmö.

Markörer för autoimmun leversjukdom: Positiv **ANA** (antinukleär ak), **SMA** (glatt muskel-ak), **LKM** (lever-, njure-, mikrosomal-ak) samt förhöjt immunoglobulin G (**IgG**; ospecifikt) inger misstanke om autoimmun hepatit (AIH). AIH är en inte ovanlig diagnos vid nyupptäckt leversjukdom hos äldre barn och tonåringar och många upptäcks ”en passant”.

Markörer för Wilsons sjukdom: Kopparinlagringssjukdomen Wilsons sjukdom, är komplex att diagnostisera. **Ceruloplasmin** är vanligen lågt ($\leq 0,20$ g/l) vid Wilsons sjukdom men kan vara normalt. Ceruloplasmin kan dessutom vara lågt vid akut leverskada. Vid kvarstående/stark misstanke föreslås kontakt med barnhepatolog för vidare utredning t.ex. med **24-timmars urinsamling av koppar** (skickas till Sahlgrenska universitetslaboratoriet). Alternativt genetisk diagnostik av mutation i *ATP7B*; Wilsongenen.

Muskelprover: **CK.** Muskel-/hjärtsjukdom kan i likhet med NAFLD ge förhöjda transaminaser, ofta med ASAT >ALAT. Intensiv fysisk träning kan likaledes ge upphov till förhöjda leverprover såsom ASAT, ALAT, LD samt CK och myoglobin (28, 30).

Ultraljud

Ultraljud lever är en lättillgänglig och icke-invasiv undersökning som accepteras väl av de flesta barn. Undersökningen har därför sin plats ganska tidigt i utredningen trots att sensitiviteten är relativt låg vid steatos < 20-30% (31, 32). Ultraljud kan dock ge information avseende andra indirekta tecken på avancerad leversjukdom, fibros eller cirros såsom mjältförstoring, omvänt flöde i v.porta/levervener, varikösa kärl samt ascites och dessutom indikera gallgångssjukdom och andra differentialdiagnoser.

Leverbiopsi

Leverbiopsi är fortfarande referensmetod för diagnos av NAFLD. Det är dock en invasiv undersökning som kräver narkos och kan vara förknippad med allvarliga risker, varför den bör utföras på strikt indikation på enheter med vana av ingreppet och kompetens att ta hand om eventuella komplikationer. En adekvat koagulationsbedömning måste dessutom alltid ske före biopsin (33) och PAD behöver bedömas av erfaren patolog. Leverbiopsi bör övervägas vid misstanke på eller ökad risk för mer avancerad leversjukdom såsom NASH eller uttalad fibros, eller där man inte kan utesluta annan allvarlig leversjukdom (20). Portal hypertension med splenomegali och trombocytopeni kan indikera uttalad fibros/cirros. I algoritmen har gränsen för att överväga leverbiopsi satts vid ALAT > 2-3 $\mu\text{kat/L}$, där viktreduktion under 3-6 månader inte förbättrat värdet.

Histopatologi

Hos vuxna består den typiska histologiska bilden framförallt av makrovesikulär steatos, ballonering/degeneration av leverceller samt i huvudsak perisinusoidal fibros men relativt opåverkade portatrakter (NASH typ 1). Hos barn däremot föreligger ofta steatos med portal inflammation och/eller fibros med avsaknad av ballonering/degeneration och perisinusoidal fibros (NASH typ 2). Det är dock relativt vanligt att barn uppvisar en blandbild av dessa mönster (20).

Scoringsystem

Det finns i nuläget otillräckliga data angående scoringsystem för fibros. Ett scoringsystem som dock är validerat i **enstaka** studier på barn är PNFI (Pediatric NAFLD Fibrosis Index) (34). Det är tänkt att användas som ett komplement till övrig diagnostik vid leversteatos för att sälla fram dem som behöver fortsatt utredning. Ett värde < 3 utesluter fibros medan värden > 8,2 indikerar signifikant fibros och motiverar fortsatt utredning. Det är mycket enkelt att använda med få parametrar: ålder, triglycerider och midjemått, och kan därmed vara värt att utvärdera ytterligare. Bukfetma är starkt kopplat till metabol dysfunktion och NASH (35). Parametrarna matas in i en applikation som kan laddas ner till dator/mobil. <https://pnfipredict.web.app/>

NAFLD fibrosis score-NFS och FIB-4 är andra scoringsystem som används på vuxna. Dessa är inte validerade för barn.

Elastografi (TE)

Sjukdomsprocesser i levern påverkar levervävnadens elasticitet. Elastografimätning bygger på metodiken att en signal skickas in mot levern och signalens spridning, s.k. shear-wave, i vävnaden mäts. Den vanligaste mätmetoden är ultraljudsbaserad Transient elastografi (TE), t.e.x. FibroScan®. Vid TE kan man få mätvärden för fibros (liver stiffness, LSM, enhet m/s eller kPa) och fett (controlled attenuation parameter, CAP, enhet dB/m). Flera studier har utvärderat TE hos barn med leverbiopsiverifierad NAFLD och visat att metoden kan identifiera olika grader av leverfibros (36-38). Nya metoder som kanske kan visa sig vara värdefulla i framtiden är MR-elastografi och Liver acoustic radiation force impulse (ARFI) (39).

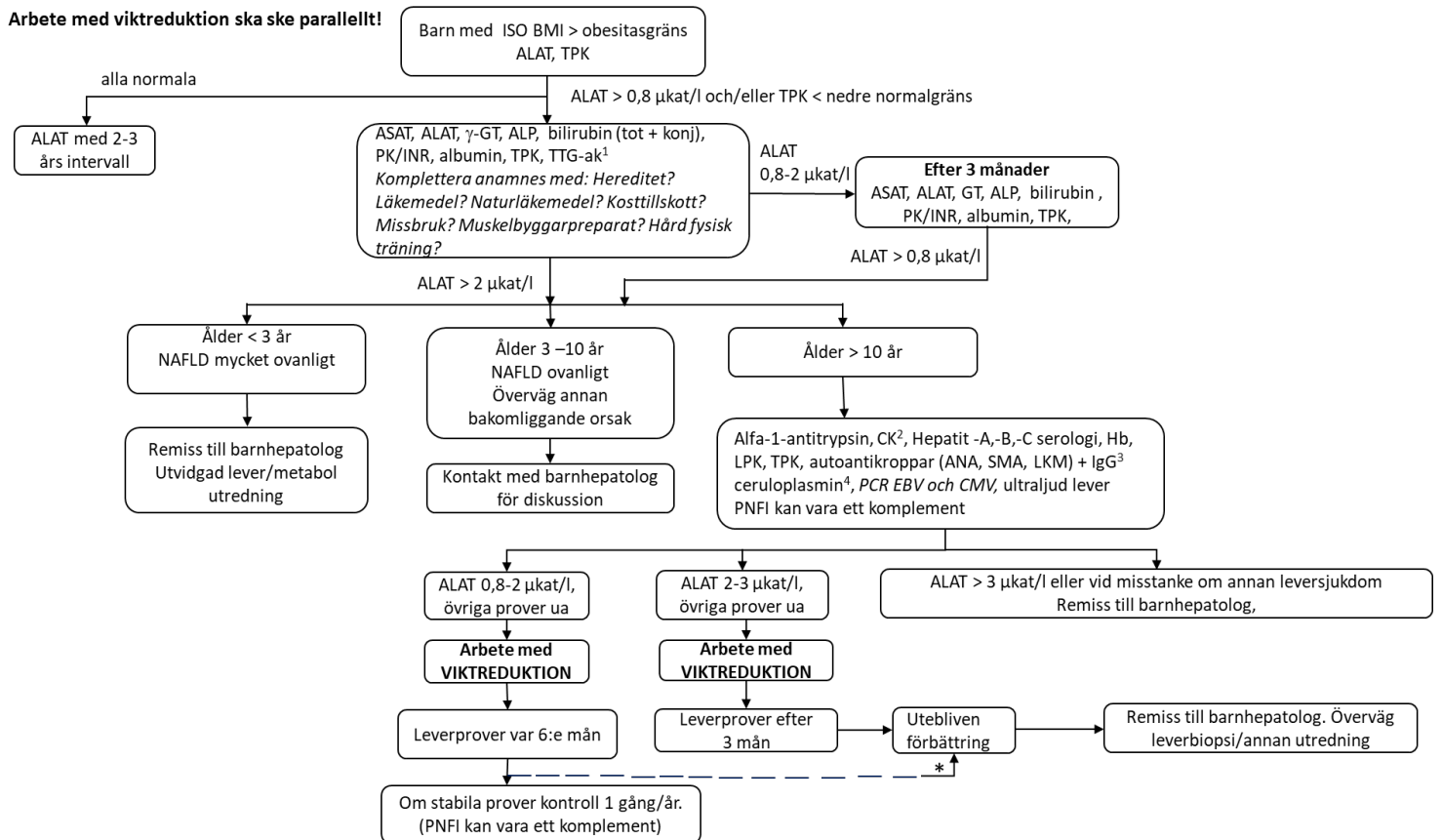
Elastografimätningar kommer sannolikt framöver att implementeras i diagnostiken av NAFLD hos barn men än så länge är kunskapsunderlaget för begränsat för att införas rutinmässigt i det kliniska arbetet och tillgången på mätmetoder varierande i landet.

Biomarkörer

Cytokeratin 18 (CK 18) är en apoptosmarkör som kan påvisas i serum vid bland annat NAFLD. Högre nivåer ses vid inflammation och fibros (NASH) och CK 18 skulle därmed kunna fungera som en icke-invasiv markör för fibros och potentiellt kunna urskilja individer med mer allvarlig sjukdom (40-42). Markören är dock mest studerad i små och selekterade material vid tertiära pediatrika levercentra och det saknas referensvärden för större pediatrika kontrollmaterial. Analysmetoden finns bara vid ett fåtal laboratorier i Sverige. På basen av dessa argument rekommenderas därför inte rutinmässig användning av CK 18 som screeningmarkör vid pediatrik NAFLD.

Förutom CK 18 har ett flertal andra biokemiska markörer utvärderats för pediatrik NAFLD i enstaka studier, bl. a. hyaluronsyra (40) och Plasma N-terminal propeptide of type III procollagen (PIIINP) (41) eller kombinationen av 3 markörer i det s.k. ELF-testet (Enhanced Liver Fibrosis) (43). Antalet studier är dock för få och det studerade materialet för begränsat för att kunna rekommendera användning i rutinmässig praxis ännu.

Algoritm för utredning och uppföljning av leverpåverkan vid NAFLD



Figur 3.

¹) Vi har valt att kontrollera TTG-antikroppar tidigt i utredningen då celiaki är en vanlig diagnos som även kan ge leverpåverkan.

²) Hård fysisk träning samt muskelsjukdom kan ge CK- och transaminasstegring, vanligen ASAT>ALAT.

³) Utredning av autoimmun hepatit innefattar kontroll av total-IgG

⁴) Utredning av mb Wilson

^{*}) Om ALAT-stegring 0,8 – 2 µkat/l kvarstår efter 3 år

Referenser

1. Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(5):700-13.
2. Eslam M, Alkhoury N, Vajro P, Baumann U, Weiss R, Socha P, et al. Defining paediatric metabolic (dysfunction)-associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. *The lancet Gastroenterology & hepatology.* 2021.
3. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics.* 2006;118(4):1388-93.
4. Nobili V, Socha P. Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Current Thinking. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66(2):188-92.
5. Nobili V, Manco M, Devito R, Di Ciommo V, Comparcola D, Sartorelli MR, et al. Lifestyle intervention and antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Hepatology.* 2008;48(1):119-28.
6. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA.* 2011;305(16):1659-68.
7. Calzadilla Bertot L, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International journal of molecular sciences.* 2016;17(5).
8. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(4):643-54.e1-9; quiz e39-40.
9. Simon TG, Roelstraete B, Hartjes K, Shah U, Khalili H, Arnell H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in children and young adults is associated with increased long-term mortality. *J Hepatol.* 2021.
10. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(2):319-34.
11. Welsh JA, Karpen S, Vos MB. Increasing prevalence of nonalcoholic fatty liver disease among United States adolescents, 1988-1994 to 2007-2010. *J Pediatr.* 2013;162(3):496-500.e1.
12. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140908.
13. Schwimmer JB, Celedon MA, Lavine JE, Salem R, Campbell N, Schork NJ, et al. Heritability of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2009;136(5):1585-92.
14. Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol.* 2018;68(2):268-79.
15. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, et al. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2008;48(6):993-9.
16. Hartmann P, Schnabl B. Risk factors for progression of and treatment options for NAFLD in children. *Clinical liver disease.* 2018;11(1):11-5.
17. Mager DR, Iñiguez IR, Gilmour S, Yap J. The effect of a low fructose and low glycemic index/load (FRAGILE) dietary intervention on indices of liver function, cardiometabolic risk factors, and body composition in children and adolescents with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2015;39(1):73-84.
18. Nier A, Brandt A, Conzelmann IB, Özel Y, Bergheim I. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Overweight Children: Role of Fructose Intake and Dietary Pattern. *Nutrients.* 2018;10(9).

19. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008;40(12):1461-5.
20. Nobili V, Alisi A, Valenti L, Miele L, Feldstein AE, Alkhoury N. NAFLD in children: new genes, new diagnostic modalities and new drugs. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology.* 2019;16(9):517-30.
21. Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr.* 2008;138(8):1452-5.
22. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology.* 2013;57(2):601-9.
23. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2009;49(6):1877-87.
24. Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology.* 2014;146(6):1513-24.
25. Ahrens W, Moreno LA, Mårild S, Molnár D, Siani A, De Henauw S, et al. Metabolic syndrome in young children: definitions and results of the IDEFICS study. *Int J Obes (Lond).* 2014;38 Suppl 2:S4-14.
26. Rodríguez G, Gallego S, Breidenassel C, Moreno LA, Gottrand F. Is liver transaminases assessment an appropriate tool for the screening of non-alcoholic fatty liver disease in at risk obese children and adolescents? *Nutr Hosp.* 2010;25(5):712-7.
27. Parker ML, Adeli K, Lévy É, Delvin E. Are universal upper reference limits for alanine aminotransferase (ALT) appropriate for assessing pediatric liver injury? *Clin Biochem.* 2018;53:55-7.
28. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(1):18-35.
29. Sveger T. Liver disease in alpha1-antitrypsin deficiency detected by screening of 200,000 infants. *N Engl J Med.* 1976;294(24):1316-21.
30. Pettersson J, Hindorf U, Persson P, Bengtsson T, Malmqvist U, Werkström V, et al. Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;65(2):253-9.
31. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol.* 2009;51(6):1061-7.
32. Ferraioli G, Soares Monteiro LB. Ultrasound-based techniques for the diagnosis of liver steatosis. *World J Gastroenterol.* 2019;25(40):6053-62.
33. Dezsófi A, Baumann U, Dhawan A, Durmaz O, Fischler B, Hadzic N, et al. Liver biopsy in children: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(3):408-20.
34. Nobili V, Alisi A, Vania A, Tiribelli C, Pietrobattista A, Bedogni G. The pediatric NAFLD fibrosis index: a predictor of liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med.* 2009;7:21.
35. Sharma AK, Metzger DL, Daymont C, Hadjiyannakis S, Rodd CJ. LMS tables for waist-circumference and waist-height ratio Z-scores in children aged 5-19 y in NHANES III: association with cardio-metabolic risks. *Pediatr Res.* 2015;78(6):723-9.
36. Nobili V, Vizzutti F, Arena U, Abraldes JG, Marra F, Pietrobattista A, et al. Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2008;48(2):442-8.
37. Alkhoury N, Sedki E, Alisi A, Lopez R, Pinzani M, Feldstein AE, et al. Combined paediatric NAFLD fibrosis index and transient elastography to predict clinically significant fibrosis in children with fatty liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver.* 2013;33(1):79-85.

38. Banc-Husu AM, Bass LM. Transient Elastography in Pediatric Liver Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2021;73(2):141-4.
39. Kamble R, Sodhi KS, Thapa BR, Saxena AK, Bhatia A, Dayal D, et al. Liver acoustic radiation force impulse (ARFI) in childhood obesity: comparison and correlation with biochemical markers. *Journal of ultrasound.* 2017;20(1):33-42.
40. Mandelia C, Collyer E, Mansoor S, Lopez R, Lappe S, Nobili V, et al. Plasma Cytokeratin-18 Level As a Novel Biomarker for Liver Fibrosis in Children With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;63(2):181-7.
41. Feldstein AE, Alkhoury N, De Vito R, Alisi A, Lopez R, Nobili V. Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(9):1526-31.
42. Fitzpatrick E, Mitry RR, Quaglia A, Hussain MJ, DeBruyne R, Dhawan A. Serum levels of CK18 M30 and leptin are useful predictors of steatohepatitis and fibrosis in paediatric NAFLD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;51(4):500-6.
43. Vuppalanchi R, Jain AK, Deppe R, Yates K, Comerford M, Masuoka HC, et al. Relationship between changes in serum levels of keratin 18 and changes in liver histology in children and adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12(12):2121-30.e1-2.