Abstract:

La metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease (MASLD) è una delle principali complicanze dell'obesità infantile e un marker precoce di rischio cardiometabolico. In età pediatrica la diagnosi è complessa, basata su una combinazione eterogenea di dati clinici, antropometrici, laboratoristici e strumentali, e mancano strumenti di screening non invasivi, sensibili e facilmente implementabili su larga scala. Obiettivo di questo studio è stato: (i) descrivere la frequenza della steatosi epatica ecografica in una coorte pediatrica reclutata sul territorio; (ii) valutarne le associazioni con parametri antropometrici e profili pressori; (iii) caratterizzare le firme metabolomiche salivari e urinarie associate alla MASLD; (iv) sviluppare e testare un modello di machine learning spiegabile per la classificazione dei soggetti in base alla presenza di steatosi.

È stato condotto uno studio osservazionale, monocentrico e trasversale su 163 bambini e adolescenti (circa 5–14 anni), normopeso, sovrappeso o obesi, reclutati tramite campagne di prevenzione e screening sul territorio. Per ciascun soggetto sono stati raccolti dati clinici, antropometrici (BMI z-score, circonferenza vita z-score) e pressori (z-score di pressione arteriosa). La steatosi epatica è stata valutata tramite ecografia qualitativa, eseguita da radiologo esperto e classificata in modo dicotomico (presente/assente). Su campioni di saliva e urina sono state effettuate analisi metabolomiche untargeted, elaborate mediante approcci multivariati, analisi di arricchimento dei pathway e un modello di Double-Weighted Ensemble Machine Learning (DW-EML) integrato con metodi di spiegabilità (SHAP).

La steatosi ecografica è risultata presente in circa un terzo della coorte, con un chiaro gradiente per classe ponderale e una prevalenza >60% nei soggetti obesi. L'adiposità globale e centrale sono risultate fortemente associate alla steatosi: per ogni incremento di 1 DS di BMI o di circonferenza vita le odds di steatosi aumentavano di circa 2–2,5 volte. Nei bambini con steatosi sono stati osservati z-score pressori più elevati, a conferma dell'intreccio tra rischio epatico e cardiovascolare già in età pediatrica.

L'analisi metabolomica ha evidenziato profili distinti nei soggetti con steatosi rispetto ai controlli: nella saliva sono emerse alterazioni dei pathway degli aminoacidi ramificati, del ciclo dell'urea, della β-ossidazione degli acidi grassi e del metabolismo del glutatione e della colina, compatibili con disfunzione mitocondriale precoce e stress ossidativo; nelle urine sono risultati coinvolti il ciclo dell'acido citrico, la β-ossidazione, il metabolismo della carnitina e del triptofano, suggerendo un ruolo dell'asse intestino–fegato e del microbiota.

Il modello DW-EML ha mostrato, in particolare per la matrice salivare, un'elevata capacità discriminante nel

distinguere i bambini con steatosi da quelli senza, con sensibilità ~96%, specificità prossima al 100% e AUC prossima all'unità. L'impiego di SHAP ha permesso di identificare un nucleo ristretto di metaboliti (acilcarnitine, derivati del triptofano, intermedi del TCA), insieme ai parametri antropometrici, come principali determinanti del rischio di steatosi, conferendo al modello un'elevata interpretabilità biologica.

In conclusione, questo studio conferma che la MASLD pediatrica si colloca nel continuum delle complicanze metaboliche dell'obesità infantile e mostra che saliva e urina contengono firme metaboliche coerenti con disfunzione mitocondriale, stress ossidativo sistemico e alterata omeostasi energetica. Questi risultati supportano il potenziale impiego di profili metabolomici salivari e urinari, integrati con parametri clinici, come strumento di screening non invasivo per la MASLD pediatrica.

Abstract (English)

Metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease (MASLD) is one of the main complications of childhood obesity and an early marker of cardiometabolic risk. In pediatrics, diagnosis is complex, based on a heterogeneous combination of clinical, anthropometric, laboratory and instrumental data, and non-invasive, sensitive screening tools that can be easily implemented on a large scale are still lacking.

The aims of this study were: (i) to describe the frequency of ultrasound-detected hepatic steatosis in a pediatric cohort recruited in the community; (ii) to assess its associations with anthropometric parameters and blood pressure profiles; (iii) to characterize salivary and urinary metabolomic signatures associated with MASLD; and (iv) to develop and test an explainable machine learning model for classifying subjects according to the presence of steatosis.

We conducted a monocentric, cross-sectional, observational study on 163 children and adolescents (approximately 5–14 years), with normal weight, overweight or obesity, recruited through prevention and screening campaigns in the community. For each subject, we collected clinical data, anthropometric measures (BMI z-score, waist circumference z-score) and blood pressure profiles (systolic and diastolic blood pressure z-scores). Hepatic steatosis was assessed by qualitative abdominal ultrasound performed by an experienced radiologist and classified dichotomously (present/absent). Untargeted metabolomic analyses were performed on saliva and urine samples and processed using multivariate approaches, pathway enrichment analysis and a Double-Weighted Ensemble Machine Learning (DW-EML) model integrated with explainability methods (SHAP).

Ultrasound-detected steatosis was present in about one third of the cohort, with a clear gradient across weight categories and a prevalence >60% among children with obesity. Both overall and central adiposity were strongly associated with steatosis: for each 1 SD increase in BMI or waist circumference, the odds of steatosis increased by about 2–2.5 times. Children with steatosis showed higher blood pressure z-scores, supporting the close interplay between hepatic and cardiovascular risk already in pediatric age.

Metabolomic analysis revealed distinct profiles in subjects with steatosis compared with controls. In saliva, we observed alterations in pathways related to branched-chain amino acids, the urea cycle, fatty acid β-oxidation, and glutathione and choline metabolism, consistent with early mitochondrial dysfunction and oxidative stress; in urine, involvement of the tricarboxylic acid (TCA) cycle, β-oxidation, and carnitine and tryptophan metabolism suggested a role of the gut–liver axis and microbiota in shaping the hepatic metabolic phenotype.

The DW-EML model showed, especially for the salivary matrix, a high discriminative ability in distinguishing

children with steatosis from those without, with sensitivity around 96%, specificity close to 100% and an AUC approaching 1. The use of SHAP allowed us to identify a restricted core of metabolites (acylcarnitines, tryptophan derivatives, TCA intermediates), together with anthropometric parameters, as the main determinants of steatosis risk, providing the model with high biological interpretability.

In conclusion, this study confirms that pediatric MASLD lies within the continuum of metabolic complications of childhood obesity and shows that saliva and urine contain metabolic signatures consistent with mitochondrial dysfunction, systemic oxidative stress and altered energy homeostasis. These findings support the potential use of salivary and urinary metabolomic profiles, integrated with clinical parameters, as a non-invasive screening tool for pediatric MASLD.