

Nutrigenomica ed epigenetica in gravidanza

Marica Franzago^{1,2}, Liborio Stuppia^{2,3}, Ester Vitacolonna^{1,2}

¹Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Scuola di Medicina e Scienze della Salute, Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara

²Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara

³Dipartimento di Scienze Psicologiche della Salute e del Territorio, Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara

ABSTRACT

Nutrigenomics and epigenetics in pregnancy

Gestational Diabetes Mellitus (GDM), the most common metabolic condition during pregnancy, is the result of complex interactions among the genetic susceptibility, lifestyle, and clinical factors. Epigenetic alterations can occur by adverse environmental exposure in utero, thus playing a significant role in this condition and predisposing the offspring to develop metabolic disease later in life. In this narrative review, we will focus on the most recent discoveries in the field of nutrigenetics and epigenetics in GDM. We will describe the effects of nutrigenetic variants and epigenetic modifications, related to nutritional and environmental factors, as well as maternal hyperglycemia in pregnancy and fetal metabolic programming. Nutrigenetic and nutrigenomic studies can offer significant opportunities to improve the prevention of maternal metabolic disorders and the adverse health effects of future generations.

Parole chiave: nutrigenomica, diabete gestazionale, obesità

INTRODUZIONE

Recentemente, vi è stato un incremento di studi nel campo della scienza della nutrizione al fine di acquisire una migliore consapevolezza del profondo rapporto tra salute e alimentazione (1). L'alimentazione, peraltro, sta sempre più assumendo un ruolo chiave come strumento di prevenzione per le patologie croniche non trasmissibili. Senza escludere i fattori ambientali e comportamentali propri dello stile di vita del singolo individuo, oggi, attraverso studi di associazione sull'intero genoma (GWAS) sono state identificate varianti genetiche, denominate SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms - Polimorfismi a singolo nucleotide), coinvolte, nel metabolismo dei carboidrati e dei lipidi, nella regolazione del colesterolo e nell'appetito che sembrano giocare un ruolo chiave nella patogenesi di malattie metaboliche come diabete, obesità, infarto e ictus (2-7).

Tuttavia, le varianti geniche, sotto forma di SNPs o varianti del numero di copie (CNV), spiegano solo una piccola parte del rischio genetico individuale. Nella complessità degli esiti fenotipici giocano un importante ruolo i meccanismi epigenetici (8-10). L'epigenetica può essere definita come lo studio dei meccanismi di regolazione che inducono cambiamenti ereditabili

nell'espressione genica senza apportare modifiche alla sequenza nucleotidica primaria del DNA (11).

Le modifiche dell'ambiente metabolico intrauterino e postnatale precoce hanno un fondamentale impatto sulla determinazione dei processi vitali e sul rischio di sviluppo di malattie a lungo termine (12,13). Sono ancora da chiarire i meccanismi molecolari attraverso i quali l'esposizione ad un ambiente intrauterino sfavorevole si traduca nello sviluppo di complicanze nella vita adulta.

Durante alcuni periodi cruciali (prima del concepimento, durante la fecondazione, la gestazione e nei primi anni di vita), i tessuti e gli organi sono particolarmente sensibili a numerosi insulti ambientali e ai fattori legati allo stile di vita che condizionano l'organismo modellando la suscettibilità alle malattie nel corso della vita (14-16). Si è ipotizzato che diversi fattori quali la dieta, lo stile di vita, l'obesità materna e l'esposizione ad un ambiente intrauterino sfavorevole come nel Diabete Gestazionale (GDM), possano modificare lo stato epigenetico, modulando l'espressione dei geni e di conseguenza il "fetal programming" senza alterare la sequenza nucleotidica dei geni interessati (Figura 1). Queste alterazioni epigenetiche sono relativamente stabili nel tempo, suggerendo che se acquisite all'inizio della vita possono avere conseguenze negative sui tratti fenotipici con un impatto anche a

Corrispondenza a: Ester Vitacolonna, Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Scuola di Medicina e Scienze della Salute, Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara, E-mail: e.vitacolonna@unich.it

Ricevuto: 9.04.2022

Revisionato: 30.04.2022

Accettato: 18.05.2022

Publicato on-line: 14.06.2022

DOI: 10.19186/BC_2022.040

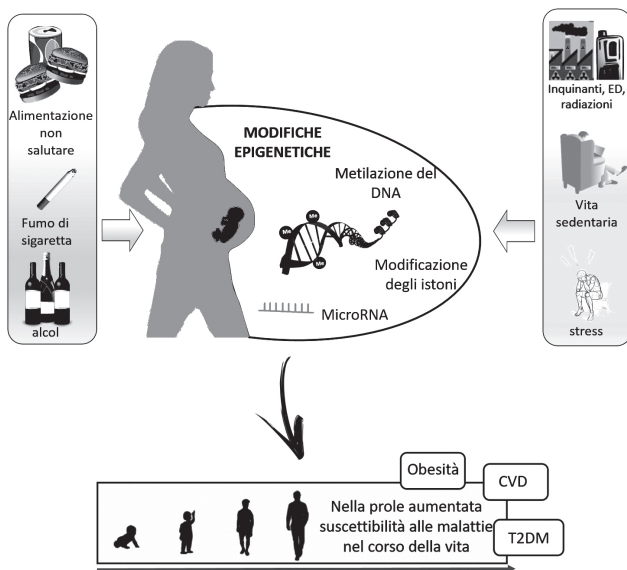


Figura 1

Lo stile di vita materno può modificare lo stato epigenetico modulando il "fetal programming" e la suscettibilità alle malattie nel corso della vita.

ED, interferenti endocrini (Endocrine Disruptors); CVD, malattia cardiovascolare; T2DM, diabete di tipo 2.

distanza di anni (17). Pertanto, la comprensione delle modifiche epigenetiche che si verificano durante la gravidanza rappresenta un campo interessante per lo studio dell'influenza dei fattori ambientali e dello stile di vita sulla programmazione metabolica fetale.

Diversi studi hanno mostrato come i cambiamenti epigenetici possano indurre conseguenze per tutta la vita nella prole esposta ad uno stile di vita materno non salutare, all'obesità materna e al GDM (18-21). La letteratura scientifica mostra il crescente interesse verso la comprensione dei meccanismi eziopatogenetici relativi al GDM e verso quelle che sono le conseguenze sulla salute materna e del nascituro anche nel lungo periodo. A questo proposito, il presente contributo fornisce una revisione narrativa sul ruolo svolto dalle varianti genetiche e dalle modifiche epigenetiche nelle donne affette da GDM e da altre condizioni metaboliche. Inoltre, saranno esaminati i potenziali interventi preventivi per ridurre il rischio di malattie metaboliche sia nella madre che nel nascituro.

NUTRIGENETICA E DIABETE GESTAZIONALE

Il GDM ha una prevalenza compresa tra l'1 e il 28% e viene definito come "diabete diagnosticato nel secondo o terzo trimestre di gravidanza che non è un diabete manifesto" (22-24). Di fatto il GDM può essere considerato uno smascheratore di un rischio sottostante e silente; è stata dimostrata, infatti, un'associazione tra GDM e successivo sviluppo di diabete di tipo 2 (T2DM), ipertensione, dislipidemia, disfunzione vascolare,

aterosclerosi e patologia cardiovascolare (25,26). Il GDM può determinare complicanze anche nel figlio, con effetti a breve termine (27), e, in linea con l'ipotesi di Freinkel N. (28), a lungo termine influenzando la composizione corporea e le funzioni metaboliche (27,29). Numerose evidenze dimostrano come in figli di donne con GDM non diagnosticato e/o non correttamente trattato sia presente un maggior rischio di sviluppare obesità, sindrome metabolica, T2DM e malattie cardiovascolari nella vita adulta (30).

Un dato significativo è che la prevalenza del GDM è aumentata di oltre il 30% negli ultimi due decenni, anche nei paesi in via di sviluppo (31). Una delle possibili cause di questa aumentata prevalenza potrebbe essere ascrivita all'età avanzata delle gestanti, correlata alla presenza di fattori di rischio, quali obesità e sovrappeso, che le rendono più suscettibili ad iperglicemia durante la gravidanza (23,32).

Tuttavia, è da sottolineare come alcune donne che sviluppano GDM non siano obese, suggerendo che altri fattori, come una alimentazione non salutare ed uno stile di vita sedentario prima e/o durante la gravidanza possono rappresentare possibili fattori di rischio di GDM (21,33). In questo scenario, alcuni tipi specifici di diabete come il diabete monogenico da deficit di glucocinasi (GCK), definito MODY2 (Maturity-Onset Diabetes of the Young) ed il GDM autoimmune (presenza di autoanticorpi DRAs, Diabetes-Related Auto-antibodies) possono manifestarsi durante la gravidanza ed essere classificati come GDM (34,35). La prevalenza del MODY 2, il più frequente tra i 13 diversi sottotipi di MODY, è compresa tra 0-6% tra le donne con GDM, ed è importante sottolineare che, in esse, l'iperglicemia viene riscontrata per la prima volta in gravidanza, nonostante sia presente fin dalla nascita (36).

Come dimostrato dai recenti progressi della tecnologia in ambito molecolare, un ruolo cruciale nello sviluppo, nelle complicanze e/o nella risposta al trattamento del GDM è svolto anche dai fattori genetici. In una revisione sistematica, Zhang et al. (37) hanno mostrato come varianti genetiche, precedentemente correlate al T2DM (38, 39), siano significativamente associate al rischio di GDM (Odds ratio -OR- compreso tra 1,15 e 1,46); tali varianti sono coinvolte nei meccanismi di secrezione di insulina e sono legate all'insulino-resistenza, suggerendo come le alterazioni della funzione delle cellule β pancreatiche possano essere implicate nell'eziologia del GDM.

Alcune metanalisi condotte su studi relativi a geni candidati e GWAS hanno identificato altre varianti genetiche, correlate in precedenza al T2DM, associate alla suscettibilità per GDM (7,40), confermando una base genetica, almeno in parte condivisa, tra GDM e T2DM (Tabella 1).

A tal proposito si sottolinea come una maggiore comprensione del ruolo di alcune varianti, associate tra loro o combinate con specifiche componenti ambientali, possa rappresentare uno strumento innovativo per ottimizzare la valutazione del rischio di sviluppare patologie complesse legate anche ad una alimentazione ed uno stile di vita non salutari (41). Ed è proprio in

Tabella 1

Studi genetici che evidenziano SNPs associati con il rischio di Diabete Mellito Gestazionale (GDM)

Riferimento	Disegno dello studio	N° Partecipanti	Varianti genetiche associate al rischio di GDM e caratteristiche metaboliche	Commento
Zhang et al. 2013 (37)	Revisione sistematica	-	rs7903146 (<i>TCF7L2</i>), rs12255372 (<i>TCF7L2</i>), rs1799884 (-30G/A, <i>GCK</i>), rs5219 (<i>E23K, KCNJ11</i>), rs7754840 (<i>CDKAL1</i>), rs4402960 (<i>IGF2BP2</i>), rs10830963 (<i>MTNR1B</i>), rs1387153 (<i>MTNR1B</i>) e rs1801278 (<i>Gly972Arg, IRS1</i>) Le varianti nel gene <i>TCF7L2</i> mostravano la più forte associazione con il rischio di GDM (ORs (95%CI) di 1,44 (1,29-1,60, p<0,001) per l'allele T di rs7903146 e 1,46 (1,15-1,84, p=0,002) per l'allele T di rs12255372).	Le varianti identificate sono coinvolte nei meccanismi di secrezione di insulina e legate all'insulino- resistenza
Ding et al. 2018 (7)	Caso controllo	2636 GDM 6086 controlli	rs7957197 (<i>HNF1A</i>), rs10814916 (<i>GLIS3</i>), rs3802177 (<i>SLC30A8</i>), rs9379084 (<i>RREB1</i>), rs34872471 (<i>TCF7L2</i>), rs7903146 (<i>TCF7L2</i>), rs11787792 (<i>GPSM1</i>) e rs7041847 (<i>GLIS3</i>). Confermate 3 varianti precedentemente identificate associate al GDM: rs10830963 (<i>MTNR1B</i>), rs1387153 (<i>MTNR1B</i>) e rs4506565 (<i>TCF7L2</i>)	Per la prima volta identificati 8 SNPs associati al rischio GDM Il più alto GRS basato su 11 SNPs era associato con alto rischio di GDM
Lowe et al. 2016 (40)	Revisione	-	Geni associati al GDM: <i>TCF7L2, GCK, KCNJ11, KCNQ1, CDKAL1, IGF2BP2, MTNR1B</i> e <i>IRS1</i> <i>BACE2</i> e <i>HKDC1</i> associati ai tratti metabolici materni.	Studi GWAS hanno identificato varianti genetiche, correlate in precedenza al T2DM, associate alla suscettibilità per GDM
Franzago et al. 2017 (56)	Caso controllo	102 GDM 66 controlli	Correlazione tra genotipo <i>TT</i> in <i>TCF7L2</i> e rischio di GDM (OR 5,4 [95%CI 1,5-19,3]). Correlazione tra assetto lipidico e varianti in <i>PPARG2</i> (p=0,02), <i>APOA5</i> (p=0,02), <i>MC4R</i> (p=0,03), <i>LDLR</i> (p=0,01), e <i>FTO</i> (p=0,02).	Relazione tra SNPs di geni coinvolti nella nutrizione e nel metabolismo, e rischio cardio metabolico nel GDM
Franzago et al. 2018 (57)	Caso controllo	104 GDM 124 controlli	Correlazione tra rs7903146 in <i>TCF7L2</i> e rischio GDM (OR: 2,56; 95%CI: [1,24–5,29]). Correlazione tra assetto lipidico e varianti nei geni <i>PPARG2</i> (p=0,03), <i>APOA5</i> (p=0,02), <i>MC4R</i> (p=0,03), <i>LDLR</i> (p=0,04) e <i>FTO</i> (p=0,03). Associazione tra rs17782313 ed il BMI prima (p=0,02) e alla fine della gravidanza (p=0,03) nel gruppo GDM	Relazione tra SNPs di geni coinvolti nella nutrizione e nel metabolismo, rischio di GDM e fattori di rischio cardio metabolico
Franzago et al. 2018 (58)	Follow-up	28 GDM	Associazione tra i livelli di TGs nel 3° trimestre di gravidanza e cIMT (p=0,014). Associazione tra il genotipo <i>APOA5 CC</i> e cIMT (p=0,045) e tra l'interazione <i>CC APOA5/CC LDLR</i> e cIMT (p=0,010).	Associazione tra SNPs e cIMT Associazione tra TGs e cIMT GDM come finestra clinica per identificare una "vulnerabilità cardio-metabolica"

SNPs, Single Nucleotide Polymorphisms; T2DM, Diabete Mellito di tipo 2; GWAs, studi di associazione sull'intero genoma; GRS, score di rischio genetico; cIMT, spessore dell'intima media dell'arteria carotide; TGs, trigliceridi; OR, Odd Ratio.

quest'ottica che la genomica nutrizionale, che comprende la nutrigenomica e la nutrigenetica, studia i meccanismi di interazione dei nutrienti con il DNA. Con lo sviluppo della nutrigenetica (scienza che studia gli effetti dei geni e delle loro varianti sulla risposta nutrizionale), la genetica è stata quindi applicata alla nutrizione ed i progressi compiuti hanno permesso di condurre una ricerca nutrizionale strettamente correlata alle necessità dell'organismo (42). La nutrigenomica indaga le modalità mediante le quali i nutrienti ed i composti bioattivi degli alimenti influenzano le funzioni dei geni attraverso le modifiche epigenetiche (42). Può quindi essere fondamentale conoscere le varianti genetiche ed il loro effetto sul metabolismo per programmare interventi nutrizionali più efficaci ed individuare le predisposizioni individuali e di suscettibilità precoce, al fine di mantenere e migliorare lo stato di benessere (43-45). Attraverso studi di associazione di geni candidati e studi GWAS, sono stati identificati polimorfismi in geni coinvolti nel metabolismo dei carboidrati e dei lipidi, nel controllo dell'appetito, e nel dispendio energetico, suggerendo la possibile relazione tra dieta, espressione genica e omeostasi del glucosio. Gli studi nutrigenetici forniscono la prova di come la variabilità interindividuale in risposta alle modifiche dietetiche possa essere determinata da fattori genetici (46-55) e, in questo contesto, l'approccio nutrigenetico potrebbe essere utile per definire i fattori genetici che influenzano il metabolismo materno durante il GDM. Recentemente, è stata identificata una relazione tra SNPs di geni coinvolti nella nutrizione e nel metabolismo, rischio di GDM e fattori di rischio cardio-metabolico (56,57), evidenziando in particolare, in donne con GDM una associazione tra assetto lipidico e varianti nei geni *PPAR γ* , *APOA5*, *MC4R*, *LDLR* e *FTO*. Alla luce di questi risultati, Franzago et al. (58) hanno evidenziato, in una coorte di donne studiate dopo tre anni dalla diagnosi di GDM, un'associazione dei valori dei trigliceridi nel 3° trimestre e lo spessore dell'intima media dell'arteria carotide (cIMT), nonché associazioni tra la variante nel gene *APOA5* e cIMT. Questo studio ha consentito di valutare, quindi, il ruolo predittivo di malattia cardiovascolare (CVD) del profilo lipidico nel 3° trimestre di gravidanza associato ai marcatori di aterosclerosi subclinica (58).

La combinazione di varianti nutrigenetiche e di semplici marcatori di routine (come il profilo lipidico durante la gravidanza) potrebbe fornire l'opportunità di avvalersi nella pratica clinica di dati per predire la CVD precoce nelle donne con precedente GDM. Sebbene i risultati ottenuti in questi studi debbano essere convalidati su un numero maggiore di pazienti, questi dati confermano come il GDM possa rappresentare una importante finestra clinica per identificare una vulnerabilità cardio-metabolica, ed una opportunità, quindi, di pianificare interventi *post partum* precoci e mirati (57). Tuttavia, non solo le varianti nutrigenetiche influenzano l'interazione tra geni e nutrizione. Grazie alle nuove tecnologie omiche ad alto rendimento, è oggi possibile studiare il genoma, l'epigenoma, il metaboloma, e i possibili pathways molecolari coinvolti nelle malattie metaboliche (59).

Un chiaro esempio è fornito da alcuni studi a livello dell'epigenoma volti ad identificare, in seguito all'esposizione intrauterina al diabete, le regioni differenzialmente metilate (DMR) nei figli (60-62). Del Rosario et al. (60) pur non identificando inizialmente specifiche regioni promotrici differenzialmente metilate nel DNA del sangue periferico umano di 28 indiani Pima non diabetici, nati da madri con e senza T2DM durante la gravidanza, successivamente, aumentando la dimensione del campione hanno identificato 39 DMR (61). Questi risultati, pur nel grande interesse, suggeriscono la necessità di ulteriori studi sui meccanismi epigenetici e sul loro effetto sia nella madre che nel nascituro.

MECCANISMI EPIGENETICI

I principali meccanismi epigenetici coinvolti nella regolazione dell'espressione genica sono: la metilazione del DNA, le modificazioni a carico degli istoni (come acetilazione, metilazione, fosforilazione) e la produzione di microRNA (miRNA), piccole molecole endogene di RNA non codificante. Queste particolari modifiche svolgono un ruolo importante in numerosi processi biologici a livello della struttura e dell'organizzazione della cromatina (63). I cambiamenti epigenetici possono dare origine ad eredità transgenerazionale che può essere trasmessa sia attraverso la linea germinale maschile che femminile. La metilazione del DNA è uno dei principali e riconosciuti meccanismi epigenetici e consiste nel trasferimento di un gruppo metilico al carbonio C5 dei residui di citosina, principalmente all'interno dei dinucleotidi CpG (citosina-fosfato-guanina), di cui 60-80% sono normalmente metilati. Nella maggior parte dei casi, una estesa metilazione del promotore comporta il silenziamento del gene e quando questo accade durante il periodo di differenziazione precoce è possibile che si verifichino alterazioni nella corretta programmazione genetica dello sviluppo embrionale (64).

La maggior parte degli stati di metilazione del DNA sono mantenuti stabilmente ed ereditati durante la divisione cellulare dalle metiltransferasi di mantenimento (DNMT1). Questi marcatori epigenetici sono fondamentali per il mantenimento degli stati fisiologici differenziati di tessuti e organi. Inoltre, DNMT3A, DNMT3B e il cofattore DNMT3L sono DNA metiltransferasi *de novo* (DNMT) che metilano il DNA durante l'embriogenesi e nelle cellule differenziate. La metilazione del DNA ha un ruolo chiave in diversi processi, tra cui l'inattivazione del cromosoma X e l'imprinting genomico.

Esistono altri meccanismi in grado di influenzare la metilazione del DNA. Infatti, il gruppo metilico sul quinto carbonio del residuo di citosina all'interno dei CpGs può essere ossidato dalla famiglia delle diossigenasi di traslocazione dieci-undici (TET), creando la "sesta base" definita come 5-idrossimetilcitosina (5hmC) (63). Le 5hmC si trovano generalmente vicino ai siti di inizio della trascrizione, il che li rende essenziali per importanti funzioni regolatorie (65).

Il secondo meccanismo di regolazione epigenetica dell'attività genica è rappresentato dalle modificazioni

delle code istoniche. I segni istonici sono processi dinamici (66) infatti possono essere facilmente indotti e rimossi da vari enzimi. Le modifiche dell'istone possono aumentare l'esposizione del DNA ai fattori trascrizionali nella regolazione dell'espressione genica (67). Infine, i miRNA sono piccoli RNA non codificanti lunghi 18-22 nucleotidi che svolgono un ruolo importante nella modulazione dell'espressione genica in molti processi biologici, tra cui lo sviluppo, la differenziazione e la regolazione del ciclo cellulare (68) e l'omeostasi del sistema immunitario (69). Diversi studi hanno anche dimostrato che i miRNA sono coinvolti in molteplici aspetti della funzione e differenziazione delle cellule β , contribuendo alla regolazione della secrezione di insulina e dell'identità delle cellule β (68,70). Nonostante la presenza di dati discordanti, prove crescenti suggeriscono che i miRNA circolanti possono potenzialmente rappresentare nuovi biomarcatori di diverse patologie evocando importanti meccanismi patogenetici (71,72).

EPIGENETICA E NUTRIZIONE MATERNA

Evidenze attuali

L'alimentazione è fondamentale per la cosiddetta memoria metabolica (73), ma ad oggi i meccanismi che si verificano durante le prime fasi di sviluppo fetale che possono influenzare il metabolismo e la suscettibilità di malattia in età avanzata non sono del tutto compresi (74). La nutrizione materna è uno dei più importanti fattori coinvolti nella programmazione metabolica fetale: in linea con l'"ipotesi di Barker" (75,76), un cattivo stato di nutrizione materno, in eccesso o in difetto, è in grado di indurre alterazioni endocrino-metaboliche nel nascituro. I nutrienti ed i composti bioattivi influenzano i tratti metabolici mediante modifiche epigenetiche, portando cambiamenti nei livelli di espressione genica e nella stabilità del genoma. Godfrey et al (77) hanno mostrato come nel DNA estratto da cordone ombelicale, i livelli di metilazione all'interno del promotore del recettore X del retinoide-a (*RXR α*) che codifica per un fattore di trascrizione implicato nel metabolismo dei grassi e nella sensibilità all'insulina, erano correlati con l'adiposità all'età di 6 o 9 anni in due coorti indipendenti. Inoltre, la metilazione in questa regione genica era fortemente associata all'assunzione di carboidrati da parte della madre durante la gravidanza.

Studi su modelli animali

Recenti evidenze hanno mostrato che la predisposizione all'obesità o il successo nella perdita di peso sono correlati anche ai cambiamenti epigenetici. I nutrienti e i relativi metaboliti possono modificare direttamente la struttura della cromatina. Ad esempio, diversi risultati di studi condotti su modelli animali suggeriscono che la dieta materna ad alto contenuto di grassi (HF) possa alterare la struttura della cromatina fetale attraverso modificazione covalente delle proteine istoniche (Tabella 2) (78,80). L'apporto di colina materna durante la gestazione regola la metilazione dell'istone H3, l'espressione delle metiltransferasi dell'istone G9a

(Kmt1c) e Suv39h1 (Kmt1a) e la metilazione del DNA dei rispettivi geni nel fegato e cervello di feti di ratto (78). Tosh et al. (79) hanno osservato che l'espressione di somatomedina (IGF1) nei ratti, dopo un periodo di restrizione alimentare durante la gestazione, era correlato a demetilazione dell'istone H3 al residuo di lisina 4 (H3K4Me2). Strakovskij et al. (80) hanno studiato la dieta HF nel periodo gestazionale, mostrando, per la prima volta, un aumento dell'espressione di diversi geni coinvolti nella gluconeogenesi epatica, con un aumento dei valori di glucosio nella prole al momento del parto indipendentemente dall'obesità e dal diabete materni. Inoltre, gli autori hanno anche evidenziato come la dieta HF durante la gestazione fosse in grado di influenzare l'espressione della fosfoenolpiruvato carbossichinasi (Pck1) nel fegato della prole mediante modificazioni istoniche con aumento della produzione epatica di glucosio inevitabilmente correlata ad un aumento della suscettibilità del T2DM nell'età adulta (80).

Diversi studi su modelli animali hanno dimostrato come la dieta materna possa influenzare il metabolismo nella prole attraverso la metilazione del DNA in linea con l'ipotesi secondo la quale la programmazione metabolica in utero coinvolge cambiamenti epigenetici (81-86). In particolare, Borengasser et al. (81) hanno dimostrato che l'obesità materna promuove la differenziazione del tessuto adiposo bianco e altera la metilazione del DNA nella prole di ratto maschio. Studi molecolari mediante combinazione di immunoprecipitazione del DNA metilato (MeDIP) e sequenziamento mediante enzimi di restrizione metilazione-sensibile (MRE-seq), hanno dimostrato che la dieta HF influenza anche la metilazione del DNA in geni coinvolti nella regolazione epatica (82). Un altro studio ha segnalato che l'obesità materna durante la gestazione e l'allattamento altera le vie epigenetiche e del microbioma intestinale favorendo lo sviluppo di steatosi epatica ed infiammazione nella prole (83). Moody et al. (84) hanno studiato la relazione tra la metilazione del DNA ed esiti metabolici in risposta ad una dieta postnatale a seguito di una dieta HF materna durante la gravidanza. Sebbene la dieta HF materna ponga una impronta epigenetica specifica, gli autori hanno dimostrato che la dieta post-svezzamento determina un cambiamento nella metilazione del DNA nel fegato di ratto, specialmente all'interno dei geni coinvolti nelle vie metaboliche. Questi dati forniscono la prova che la metilazione del DNA è un meccanismo altamente dinamico e risponde ai cambiamenti dietetici postnatali, sottolineando l'importanza delle scelte dietetiche dopo la nascita e per tutta la durata della vita. Recentemente, Keleher et al. (85) hanno identificato diversi geni differenzialmente espressi sulla base della dieta materna, insieme a decine di migliaia di regioni differenzialmente metilate (DMR) nella prole. Nelle figlie, gli effetti epigenetici sono accompagnati anche da cambiamenti fenotipici seguiti da sviluppo di obesità e diabete. Si sottolinea come le precedenti indagini di Khan et al. (86), pur sottolineando l'influenza della dieta materna sulla regolazione del tessuto adulto, hanno suggerito che i cambiamenti trascrizionali non erano determinati da cambiamenti nella metilazione del DNA nel fegato adulto.

Tabella 2

Studi su modelli animali per valutare l'effetto della nutrizione materna sulle modifiche epigenetiche nella prole

Riferimento	Modello Animale	Intervento materno	Tessuto analizzato nella prole	Principali risultati nella prole
Khan et al. 2004 (86)	Topo C57BL/6J	HF LF	Fegato	Nessuna differenza nei livelli di metilazione del DNA Upregolazione dei geni coinvolti nell'infiammazione, nella sintesi del colesterolo e nell'attivazione di <i>RXR</i>
Davison et al. 2009 (78)	Ratti Sprague-Dawley	Supplementazione o carenza di colina	Fegato Corteccia Frontale	Aumento dei livelli di metilazione del DNA nei geni <i>G9a</i> e <i>Suv39h1</i> in seguito a dieta carente di colina Upregolazione di H3K9Me2 e H3K27Me3 in seguito a supplementazione di colina
Tosh et al. 2010 (79)	Ratto Sprague Dawley	RA	Fegato Plasma	Diminuzione della demetilazione in H3K4 nella regione <i>Igf1</i> nella prole IUGR Aumento della trimetilazione di H3K4 nella regione di <i>Igf1</i> e aumento dell'espressione epatica di <i>Igf1</i> nella prole di maschi adulti obesi
Strakovsky et al. 2011 (80)	Ratto Sprague-Dawley	HF	Fegato Plasma Serio	Maggiore espressione di geni coinvolti nella gluconeogenesi epatica Aumento dei livelli di glucosio plasmatico Modifiche istoniche con effetti sull'espressione di <i>Pck1</i> nel fegato
Garbory et al. 2012 (142)	Topo C57BL/6J	HF	Placenta	Deregolazione di 7 geni in relazione alla dieta e al sesso
Borengasser et al. 2013 (81)	Ratto Sprague Dawley	Sovra-nutrizione	WAT	Alterazioni nella metilazione del DNA in geni importanti per lo sviluppo Sovreregolazione dei geni lipogenici
Zhang et al. 2015 (82)	Ratto Sprague-Dawley rat	HF	Fegato	Ipometilazione di 12 494 DMR Ipermetilazione di 6 404 DMR Identificazione di geni differenzialmente metilati coinvolti nella funzione epatica
Petropoulos et al. 2015 (112)	Ratto Cohen diabetico	HS	Placenta Fegato	Differenti livelli di metilazione in geni nella placenta e nel fegato con una significativa sovrapposizione
Wankhade et al. 2017 (83)	Topo C57BL6/J	HF	Fegato	Maggiore risposta immunitaria ed espressione genica pro-fibrogenica Identificazione di 82 DMR nella dieta carente di metionina-colina
Moody et al. 2017 (84)	Ratto Sprague-Dawley	HF	Fegato	Identificazione di geni differenzialmente metilati coinvolti nel T2DM e nelle vie di segnalazione delle adipocitochine Alterazione dell'espressione di diversi geni coinvolti nel metabolismo dei lipidi e nell'infiammazione
Keleher et al. 2018 (85)	Topo SM/J	HF	Fegato Cuore	Identificazione di decine di migliaia di DMR Alterazione dell'espressione di diversi geni nel tessuto epatico e cardiaco
Jiang et al. 2018 (103)	Topo ICR	STZ	Placenta	Upregolazione di 35 geni imprintati Down-regolazione di 10 geni imprintati Down-regolazione di <i>Dlk1</i> e upregolazione di <i>Gtl2</i>

HF, dieta ad alto contenuto di grassi; LF, dieta a basso contenuto di grassi; RXR, Recettore X del retinoide; RA, Restrizione alimentare; Igf1, somatomedina; IUGR, ritardo di crescita intrauterino; Pck1, fosfoenolpiruvato carbossichinasi 1; DMR, regioni differenzialmente metilate; HS, dieta ricca di saccarosio e povera di rame; STZ, streptozotocina.

La teoria della Risposta Predittiva-Adattativa (PAR) evidenzia come il feto risponda attivamente operando adattamenti in utero in preparazione al suo ambiente postnatale di tipo predittivo (87,88). Si noti che quando la PAR è appropriata, il fenotipo della prole risulterà normale, ma se l'ambiente previsto e quello reale non coincidono (come, per esempio, denutrizione prenatale seguita da abbondanza nutrizionale postnatale), allora, si realizzerà lo sviluppo di una malattia metabolica. Questa teoria è ampiamente convalidata da studi su modelli animali, mentre i dati sull'uomo sono controversi. Tuttavia, l'ipotesi PAR ha ricevuto notevoli consensi (89), ma nel complesso è stata criticata per alcune limitazioni: infatti si basa su studi che hanno valutato il basso peso alla nascita come indicatore della nutrizione materna e non chiariscono adeguatamente l'aumento del rischio di Malattie Croniche Non Trasmissibili (NCD) nella prole esposta ad eccesso di nutrizione sia nell'ambiente prenatale che postnatale (21).

Questi studi hanno permesso lo sviluppo della teoria delle origini dello sviluppo della salute e della malattia (Developmental Origins of Health and Disease- DOHaD), che sta richiamando molta attenzione da parte della comunità scientifica. Essa teorizza che la salute e la malattia di un individuo in età adulta siano influenzati dall'ambiente prima e dopo la nascita ponendo, quindi, in evidenza l'importanza di alcuni periodi estremamente sensibili dello sviluppo (90).

Studi umani

La carestia olandese del 1944-1945 ha fornito un'opportunità unica per studiare gli effetti sul nascituro della grave malnutrizione materna durante le diverse fasi della gestazione (91,92).

Nel periodo della carestia, le razioni di cibo diminuirono gradualmente da circa 1800 calorie (dicembre 1943) a meno di 800 calorie (aprile 1945); non era consentita la fornitura di razioni extra alle donne in gravidanza o in allattamento e ai bambini molto piccoli. Studi effettuati sui figli di queste donne (91,92) hanno dimostrato come le malattie croniche nella vita adulta erano fortemente correlate all'esposizione della malnutrizione materna durante la gestazione. Heijmans et al. (93) hanno dimostrato una riduzione dei livelli di metilazione del gene *imprinted IGF2* (coinvolto nella crescita e nel metabolismo) in individui esposti alla carestia olandese rispetto ai loro fratelli dello stesso sesso non esposti, sei decenni dopo. Gli autori hanno dimostrato come lo squilibrio nutrizionale materno durante un periodo critico dello sviluppo come la gestazione, abbia influenzato la salute del nascituro. Studi epidemiologici e su modelli animali hanno dimostrato il legame tra malnutrizione materna e scarsa crescita in utero, con un aumentato rischio di ipercolesterolemia, ipertensione, T2DM e obesità in età adulta (94,95). In uno studio pilota, Quilter et al. (96) hanno esaminato gli effetti di ambienti intrauterini avversi sulla metilazione del DNA alla nascita, studiando bambini esposti al GDM o caratterizzati da restrizione della crescita intrauterina. L'analisi di 14 000

geni ha rivelato che molti *loci* sono associati a CpGs differenzialmente metilati, suggerendo che le diverse traiettorie di sviluppo possono condividere meccanismi biologici comuni. Inoltre, la maggior parte dei geni differenzialmente metilati in studio erano coinvolti nella crescita e nello sviluppo, suggerendo un possibile loro ruolo nella programmazione del rischio di malattia metabolica nell'adulto.

EPIGENETICA E DIABETE GESTAZIONALE

La ricerca attuale su GDM è fortemente protesa allo studio della relazione con le complicanze del figlio ed in particolare con i neonati grandi per età gestazionale (Large for Gestational Age - LGA; peso alla nascita superiore al 90° percentile per età gestazionale e sesso) o macrosomici (peso alla nascita superiore a 4 kg) (97). Grande interesse è rivolto allo studio dell'influenza dell'obesità e dell'iperglicemia materna durante la gravidanza sulla salute metabolica del nascituro. Il GDM rappresenta un chiaro esempio dell'ipotesi di Barker (98) e, come supportato dalla letteratura scientifica, si adatta bene all'ipotesi della programmazione metabolica fetale e alla DOHaD, poiché l'esposizione fetale al diabete e agli squilibri metabolici correlati al diabete possono alterare lo sviluppo funzionale degli organi e quindi potenzialmente aumentare la suscettibilità alle malattie croniche (99,100). Boney et al. (99) hanno dimostrato che bambini LGA, esposti a diabete o obesità materna, sono maggiormente a rischio di sviluppare sindrome metabolica in età adulta. Successivamente, sulla base dei dati raccolti dallo studio multietnico (bianchi non ispanici, afroamericani e ispanici), Dabelea et al. (100) hanno osservato che le esposizioni intrauterine a diabete materno e obesità rappresentavano il 47% dei casi di T2DM diagnosticati a 22 anni nella prole, probabilmente come conseguenza dell'esposizione intrauterina all'iperglicemia. Nonostante queste evidenze, ad oggi la letteratura mostra notevoli lacune sulla relazione tra epigenetica e GDM. Tuttavia, è stata suggerita l'ipotesi che il GDM possa innescare alcuni cambiamenti nelle firme epigenetiche, vedendo questi ultimi come possibili biomarcatori.

Alterazioni epigenetiche nella placenta

La placenta, costituita da una parte materna ed una fetale, è un organo cruciale per la crescita fetale e lo sviluppo ed è considerato un regolatore chiave dello scambio materno-fetale dei nutrienti (101). La placenta è anche l'organo in cui si manifesta in modo più diretto il fenomeno del genomic imprinting, ossia l'espressione di alcuni geni solo nell'allele materno (associato a ridotto trasferimento di nutrienti al feto) o in quello paterno (associato ad aumentato trasferimento di nutrienti al feto). Condizioni avverse nell'utero, come il GDM, sono state correlate con alterazioni dell'anatomia e della fisiologia della placenta, inducendo alterazioni nell'apporto di nutrienti alla placenta e, di conseguenza, nella crescita e nello sviluppo fetale. Gli studi mostrano in

maniera sempre più chiara che una corretta regolazione epigenetica è significativa di un corretto sviluppo e funzionalità della placenta (102).

Studi su modelli animali

Jiang et al. (103) hanno mostrato su modelli animali, come l'esposizione ad un ambiente intrauterino iperglicemico colpisca la placenta sia nella prima che nella seconda generazione filiale. Gli autori hanno rivelato con analisi dei microarray su RNA placentare, 35 geni up-regolati e 10 down-regolati. In particolare, *Dlk1* si è dimostrato down-regolato e *Gtl2* up-regolato, in conseguenza di un'alterata metilazione nella prima e nella seconda generazione. In dettaglio, *Dlk1* promuove l'attivazione della via di segnalazione insulina/IGF-I e l'inibizione dell'adipogenesi, mentre *Gtl2* è un regolatore della segnalazione di TGF- β e notch. Gli autori hanno mostrato che l'iperglicemia intrauterina è correlata ad una diminuzione del peso placentare sia nella prima (F1) che nella seconda (F2) generazione filiale.

Studi sull'uomo

Diversi studi sono stati condotti sull'uomo e hanno supportato il ruolo dei meccanismi epigenetici nella programmazione metabolica fetale del nascituro esposto ad iperglicemia materna durante la gravidanza (Tabella 3) (87,104-113). Reichetzeder et al. (104) sono stati i primi a eseguire un'analisi della metilazione globale del DNA placentare in oltre mille biopsie, dimostrando che l'ipermetilazione globale del DNA placentare è associata al GDM, indipendentemente dai fattori di rischio.

Bouchard et al. (105,106) hanno dimostrato che l'iperglicemia materna è associata ad alterazioni della metilazione nei geni leptina (*LEP*) e adiponectina (*ADIPOQ*). Gli autori hanno dimostrato una correlazione significativa tra il valore glicemico alla 2^a ora post OGTT (Oral Glucose Tolerance Test) ed il grado di metilazione del DNA del gene *LEP* nella placenta sia sul lato fetale che materno nelle donne affette da GDM. Valori di glucosio più elevati sono stati correlati con un minor livello di metilazione sul lato fetale, ma più elevato sul lato materno (105). Per quanto riguarda *ADIPOQ*, gli autori hanno riferito che un alto livello di insulino-resistenza materna nel secondo e terzo trimestre era associato ad una minore metilazione del DNA di questo gene sul lato materno. Poiché *ADIPOQ* e *LEP* sono coinvolti nel metabolismo energetico e nel controllo della sensibilità all'insulina, gli adattamenti epigenetici descritti potrebbero avere il potenziale di indurre cambiamenti del metabolismo del glucosio nella madre e nel nascituro più avanti nella vita. García-Cardona et al. hanno confermato la correlazione tra alterazioni epigenetiche di *LEP* e *ADIPOQ* e sensibilità all'insulina (114) analizzando i livelli di metilazione dei promotori di questi due geni nel DNA del sangue periferico in adolescenti. Questo studio ha dimostrato che i bambini obesi con insulino-resistenza presentano livelli di metilazione del DNA nel gene *ADIPOQ* significativamente ridotti, associati in maniera diretta ai livelli sierici di adiponectina.

È stato inoltre dimostrato che i livelli di metilazione del DNA nel gene *MEST*, gene sottoposto ad imprinting, erano significativamente ridotti nella placenta e nel cordone ombelicale di donne affette da GDM rispetto alle donne non affette (113). Inoltre, gli adulti obesi hanno mostrato ipometilazione di *MEST* nel sangue periferico rispetto ai controlli di peso normale (corrispondenti per sesso ed età). Questi risultati supportano l'ipotesi che, nei neonati di madri affette da GDM, un'alterata programmazione epigenetica del gene *MEST* possa contribuire alla predisposizione all'obesità per tutta la vita.

Houde et al. (107) hanno valutato le possibili associazioni tra il profilo metabolico materno ed i livelli di metilazione del gene *ABCA1* (*ATP-binding cassette A1*) nella placenta e nel cordone ombelicale. Gli autori hanno dimostrato che i livelli di metilazione di *ABCA1* sul lato materno della placenta sono correlati con livelli di colesterolo HDL materni e livelli di glucosio alla 2^a ora post OGTT. Dal lato fetale della placenta, i livelli di metilazione di *ABCA1* sono stati associati a livelli di trigliceridi nel sangue cordonale mentre erano inversamente correlati con quelli di glucosio materno alla 2^a ora post OGTT.

Houde et al. (108) hanno riportato per la prima volta un'associazione tra livelli di metilazione del DNA della lipoproteina lipasi (LPL) in campioni di placenta ed i valori di glucosio materno e dei profili lipidici in donne affette da GDM. Gli stessi autori hanno dimostrato che i livelli di metilazione del DNA placentare fetale nel gene *LPL* erano positivamente associati ai parametri antropometrici e alla composizione corporea nei bambini di 5 anni di età. Nel complesso, questi risultati suggeriscono la presenza di epi-variazioni placentari *LPL* indotte dall'esposizione al GDM e supportano l'evidenza della programmazione metabolica fetale dell'obesità infantile attraverso alterazioni epigenetiche, sottolineando le conseguenze dannose di alcune esposizioni in utero (19).

Un altro contributo rilevante è stato fornito da Côté et al. (115), che hanno dimostrato come la glicemia materna sia associata a variazioni della metilazione del DNA fetale nella placenta nel dominio PR contenente la proteina 16 (*PRDM16*), la proteina morfogenetica ossea 7 (*BMP7*) ed i geni del recettore γ attivato dal proliferatore del perossisoma-1 α (*PPARGC1 α*), coinvolti nella regolazione del tessuto adiposo bruno (BAT) e degli adipociti beige (wBAT) dei neonati. Gli autori suggeriscono che la programmazione epigenetica in questi loci risponde alle variazioni metaboliche legate all'omeostasi del glucosio durante la gravidanza, influenzando quindi l'attivazione di BAT/wBAT e lo sviluppo dell'obesità e del T2DM più avanti nella vita. Petropoulos et al. (112) hanno dimostrato che il diabete durante la gravidanza nei ratti e il GDM alterano il metiloma nella placenta di entrambe le specie, così come nel fegato della prole del ratto. Questo studio ha dimostrato come un profilo di metilazione del DNA dell'intero genoma nella placenta si sovrapponga in modo significativo a quello nel fegato della prole, supportando la necessità di studiare il tessuto placentare per l'identificazione di biomarcatori correlati ad outcomes fetali. Questi dati sono coerenti con uno studio precedente di Ruchat et al. (110) che hanno

Tabella 3

Studi umani che mostrano alterazioni epigenetiche nelle donne con iperglicemia in gravidanza e nella prole

Riferimento	Disegno dello Studio	Dimensione del campione	Criteri Iperglicemia	Tessuto analizzato	Principali Risultati
Bouchard et al. 2010 (105)	Caso-controllo	48 (23 IGT)	2 ore 75 g OGTT, IGT glucosio ≥ 140 mg/dL a 2 ore	Placenta (lato fetale e materno) Sangue del cordone ombelicale	Correlazione tra la metilazione del DNA nel gene <i>LEP</i> e i livelli di glucosio a 2 ore nelle donne con IGT
Bouchard et al. 2012 (106)	Studio di Coorte	98 (31 IGT)	2 ore 75 g OGTT, IGT livelli glucosio ≥ 140 mg/dL a 2 ore in accordo ai criteri WHO	Placenta (lato fetale e materno) Sangue del cordone ombelicale Sangue periferico materno	Correlazione inversa tra la metilazione del gene <i>ADIPOQ</i> sul lato fetale e i livelli di glucosio a 2 ore nelle donne IGT
Houde et al. 2013 (107)	Studio di Coorte	100 (26 IGT)	2 ore 75 g OGTT, IGT livelli glucosio ≥ 140 mg/dL a 2 ore in accordo ai criteri WHO	Placenta (lato fetale e materno) Sangue del cordone ombelicale Sangue periferico materno	Correlazione positiva tra la metilazione del gene <i>ABCA1</i> sul lato materno e i livelli di HDL-C e glicemia a 2 ore nelle donne IGT Correlazione tra metilazione del DNA sul lato fetale e TG nel sangue del cordone ombelicale Correlazione inversa tra i livelli di metilazione del gene <i>ABCA1</i> nel sangue del cordone ombelicale e livelli di glucosio a 2 ore
El Hajj et al. 2013 (113)	Studio di Coorte	251 nati (88 nati da madre affetti da GDM trattate con la dieta 98 nati da madre affetti da GDM trattate con insulina 65 nati da madre non-GDM)	2 ore 75 g OGTT, GDM livelli glucosio > 180 mg/dL a 1 ora e/o > 155 mg/dL a 2 ore	Placenta Sangue del cordone ombelicale	Riduzione dei livelli di metilazione di <i>MEST</i> , <i>NR3C1</i> , and ALUs nella prole di donne affetti da GDM
Ruchat et al. 2013 (110)	Caso-controllo	44 nati (30 da madri affette da GDM)	2 ore 75 g OGTT, GDM livelli glucosio ≥ 140 mg/dL a 2 ore in accordo con i criteri WHO	Placenta (lato fetale) Sangue del cordone ombelicale	Geni metilati in modo differenziale nella placenta e nel sangue cordonale di donne affette da GDM
Quilter et al. 2014 (96)	Studio di Coorte	C-HAPO coorte ($n=36$) I-CBGS coorte [$n=96$ (16 GDM)]	Criteri WHO	Sangue del cordone ombelicale	Diversa metilazione di alcuni loci coinvolti nella crescita e nello sviluppo del diabete

Tabella 3

Continua

Riferimento	Disegno dello Studio	Dimensione del campione	Criteri Iperglicemia	Tessuto analizzato	Principali Risultati
Houde et al. 2014 (108)	Studio di Coorte	126 (27 GDM)	2 ore 75 g OGTT, GDM livelli glucosio ≥ 140 mg/dL In accordo con i criteri WHO	Placenta (lato fetale)	Livelli di metilazione del gene <i>LPL</i> inferiori nelle donne GDM. Correlazione inversa tra i livelli di metilazione del gene <i>LPL</i> nelle donne GDM e i livelli materni di glucosio a 2 ore e i livelli HDL-C
Desgagne et al. 2014 (111)	Studio di Coorte	140 (IGT 34)	2 ore 75 g OGTT, IGT livelli di glucosio ≥ 140 mg/dL a 2 ore In accordo con i criteri WHO	Placenta (lato fetale)	Riduzione dei livelli di metilazione del gene <i>IGF1R</i> e <i>IGFBP3</i> e correlazione con i livelli di glucosio materni a 2 ore Associazione tra i livelli di mRNA di <i>IGF1R</i> e i marcatori di crescita dei neonati
Petropoulos et al. 2015 (112)	Caso-controllo	14 (7 lieve iperglicemia)	GCT o OGTT (1 settimana dopo GCT)	Placenta	Diversa metilazione di alcuni loci coinvolti nella funzione endocrina, nel metabolismo e nelle risposte all'insulina
Reichetzeder et al. 2016 (104)	Studio di Coorte	1030 (56 GDM)	GDA and DGGG 2014	Placenta (lato materno)	Aumento dei livelli di metilazione globali nelle donne affette da GDM
Côté et al. 2016 (115)	Studio di Coorte	E-21 Coorte ($n=133,33$ GDM) Gen3G Coorte ($n=172$, controlli)	E-21: 2 ore OGTT, GDM livelli glucosio ≥ 140 mg/dL In accordo con i criteri WHO Gen3G: 2 ore OGTT in accordo con i criteri IADPSG 2010	Placenta (lato fetale)	Correlazione inversa tra i livelli di metilazione dei geni <i>PRDM16</i> , <i>BMP7</i> e <i>PPARGC1A</i> e la glicemia materna al 2° e 3° trimestre
Gagné-Ouellet et al. 2017 (19)	Coorte prospettiva	66 bambini (24 nati da madri affetti da GDM)	2 ore 75 g OGTT, GDM livelli di glucosio ≥ 140 mg/dL In accordo con i criteri WHO	Placenta (lato fetale) Sangue dei bambini a 5 anni	Correlazione negativa tra la metilazione del gene <i>LPL</i> e livelli di mRNA nella placenta Correlazione positiva tra i livelli di metilazione del gene <i>LPL</i> e il profilo antropometrico a 5 anni di età
Chen et al. 2017 (61)	Studio di Coorte	388 nati Indiani Pima (187 nati da donne affette da T2DM, 201 popolazione generale)	2 ore 75 g OGTT, T2DM FBG ≥ 126 mg/dL o 2 ore livelli di glucosio ≥ 200 mg/dL in accordo con i criteri WHO	Sangue periferico	Differenti livelli di metilazione in multipli siti genomici
Houshmand-Oeregaard et al. 2017 (116)	Studio di Coorte	206 nati (82 nati da madri affetti da GDM, 67 nati da madri affette da T1DM, 57 popolazione generale)	Madre = 3 ore 50g OGTT nelle donne con uno o più fattori di rischio e con un valore di glicemia a digiuno ≥ 74 mg/dL Bambino = 2 ore 75g OGTT in accord ai criteri WHO 2006	SAT plasma	Aumento dei livelli di metilazione di <i>ADIPOQ</i> e riduzione dell'espressione di <i>ADIPOQ</i> e <i>RETN</i> in SAT di nati da madri affette da GDM

Tabella 3

Continua

Riferimento	Disegno dello Studio	Dimensione del campione	Criteri Iperglicemia	Tessuto analizzato	Principali Risultati
Ott et al. 2018 (117)	Coorte prospettico osservazionale	55 coppie madre-bambino (25 GDM)	Linee guida Nazionali tedesche	SAT VAT Sangue del cordone ombelicale Sangue periferico	Alterazione dei profili di metilazione del gene <i>ADIPOQ</i> nei nati da madri affette da GDM Riduzione dei livelli di mRNA dell' <i>ADIPOQ</i> in SAT e VAT nelle donne GDM
Ott et al. 2019 (118)	prospettico osservazionale	55 coppie madre-bambino (25 GDM)	Linee guida Nazionali tedesche	SAT VAT Sangue del cordone ombelicale Sangue periferico	Simili livelli di metilazione tra i diversi tessuti analizzati Riduzione dei livelli di espressione del recettore dell'insulina in SAT e VAT nelle donne affette da GDM
Franzago et al. 2021 (152)	Caso-controllo	33 GDM 27 controlli	2 ore OGTT in accordo con i criteri IADPSG 2010	Placenta (lato materno e fetale)	Non è stata trovata associazione tra la metilazione del gene <i>FTO</i> e GDM. Associazione tra metilazione del gene <i>FTO</i> sul lato materno e fumo di sigaretta (CpG1 e CpG3). Correlazione positiva tra i livelli di TGs e metilazione del gene <i>FTO</i> (CpG2) ($p=0,036$) nel gruppo GDM. Associazione inversa tra i livelli di HDL-C e metilazione sul lato materno (CpG3) nei controlli ($p=0,045$). Associazione tra <i>FTO</i> rs9939609 e peso alla nascita neonatale ($p=0,033$)
Franzago et al. 2022 (154)	Caso-controllo	33 GDM 27 controlli	2 ore OGTT in accordo con i criteri IADPSG 2010	Placenta (lato materno e fetale)	Inferiori livelli di metilazione del gene <i>MC4R</i> (CpG1 e CpG2) sul lato fetale nelle donne GDM ($p=0,033$) Correlazione tra i livelli di metilazione <i>MC4R</i> sul lato materno e la concentrazione di glucosio durante OGTT Associazione tra il livello di metilazione del gene <i>MC4R</i> sul lato materno (CpG2) e i livelli di LDL-C al terzo trimestre di gravidanza ($\rho=0,340$, $p<0,05$) Associazione tra la metilazione di <i>MC4R</i> sul lato materno e il profilo lipidico al terzo trimestre di gravidanza nelle donne fumatrici

IGT, ridotta tolleranza al glucosio, Impaired Glucose Tolerance; OGTT, oral glucose tolerance test; TGs, trigliceridi; C-HAPO, Children from Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome; I-CBGS, infants from Cambridge Baby Growth Study; WHO, Organizzazione Mondiale della Sanità, World Health Organization; GCT, curva da carico orale con 50 gr. di glucosio x os, Glucose Challenge Test; GDA, German Diabetes Association; DGGG, German Association for Gynaecology and Obstetrics; E-21, ECO-GENE-21; Gen3G, Genetics of Glucose regulation in Gestation and Growth; IADPSG, International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups; SAT, tessuto adiposo sottocutaneo; VAT, tessuto adipose viscerale; CpG, dinucleotidi CpG (citosina-fosfato-guanina).

mostrato alterazioni della metilazione del DNA nei geni correlati al metabolismo nel cordone ombelicale e nella placenta di donne affette da GDM.

Alterazioni epigenetiche in altri tessuti

La placenta non sembra rappresentare l'unico tessuto rilevante per lo studio delle modifiche epigenetiche nel GDM. È interessante notare che i livelli di metilazione possono essere tessuto-specifici, oppure essere simili in alcuni tessuti. Ad esempio, i nati da madri affette da GDM che avevano ricevuto specifici consigli nutrizionali hanno mostrato un'augmentata metilazione nel gene *ADIPOQ* e una riduzione dell'espressione dell'mRNA dei geni *ADIPOQ* e *RETN* nel tessuto adiposo sottocutaneo (subcutaneous adipose tissue-SAT); tuttavia, livelli alterati di metilazione ed espressione non si riflettevano nei livelli di proteine plasmatiche (116). Vale la pena notare che Ott et al. (117) hanno analizzato SAT, tessuto adiposo viscerale (visceral adipose tissue- VAT) e campioni di sangue periferico in 25 donne affette da GDM e 30 controlli e rispettivi bambini. Le donne affette da GDM erano caratterizzate da ipoadiponectinemia e presentavano ridotti livelli di mRNA sia nel tessuto SAT che nel tessuto VAT, indipendentemente dall'indice di massa corporea (BMI). Sono state osservate relazioni inverse tra adiponectina materna e glucosio, peptide C, insulina e valutazione del modello omeostatico dell'insulino-resistenza (HOMA-IR). I livelli di metilazione del DNA erano significativamente alterati nei nati da madri affette da GDM. Inoltre, i livelli di adiponectina plasmatica erano analoghi nei nati da madri con o senza GDM. Successivamente, alcuni autori (118) hanno riportato che, sia nel tessuto SAT che nel tessuto VAT, vi era una riduzione del livello di espressione del recettore dell'insulina (IR) nelle donne con GDM, e la riduzione era aumentata nel tessuto VAT ed era indipendente dal BMI materno. Inoltre, i livelli di espressione del recettore dell'insulina nel tessuto VAT erano inversamente correlati ai parametri antropometrici/metabolici materni e neonatali. Infine, i livelli di metilazione del DNA erano comparabili nel tessuto VAT e nel sangue periferico nelle madri e nella prole (111). Questi studi sottolineano l'importanza di analizzare diversi tessuti per comprendere l'intera portata degli effetti dell'iperglicemia materna nel nascituro.

miRNAs e diabete gestazionale

Le vescicole extracellulari (EV) stanno emergendo quali potenziali mediatori della comunicazione intercellulare, veicolando diverse molecole-segnale, tra cui proteine, lipidi, DNA, miRNA, mRNA, e metaboliti. Numerosi studi hanno ipotizzato il coinvolgimento delle EV nell'obesità, nel T2DM e nell'insorgenza di complicanze cardiovascolari. Il potenziale ruolo delle EV nel GDM non è completamente compreso (119), ma in questo contesto, lo studio dei miRNA presenti nelle EV circolanti nel sangue periferico può essere una strada promettente per studiare l'effetto precoce di malattia

metabolica (120).

La metilazione del DNA non è l'unico meccanismo epigenetico coinvolto nel GDM. Recentemente, anche i miRNA sono stati studiati come possibili biomarcatori epigenetici nel GDM (Tabella 4) (121).

Zhao et al. (122) hanno mostrato che miR-132, miR-29a e miR-222 sono espressi in modo differenziale tra donne affette da GDM e controlli nel siero tra la 16^a-19^a settimana gestazionale. Contrariamente a Zhao et al. (110), Tagoma et al. (123) hanno mostrato come l'espressione di miR-222 e miR-195-5p fosse più elevata nel plasma di donne affette da GDM rispetto ai controlli.

Zhu et al. (124) hanno dimostrato che cinque miRNAs (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-17-5p, hsa-miR-19a-3p, hsa-miR-19b-3p e hsa-miR-20a-5p) erano up-regolati in donne con iperglicemia in gravidanza rispetto ai controlli. Shi et al. (125) hanno determinato livelli diversi di espressione di miRNAs nel grasso omentale prelevato al momento del parto cesareo di pazienti con e senza GDM, suggerendo miR-222 come potenziale regolatore dell'espressione del recettore degli estrogeni: e pertanto è stato definito biomarcatore candidato nonché potenziale bersaglio terapeutico per il GDM. Cao et al. (126) hanno esaminato la relazione tra il GDM e miR-98. Gli autori hanno riscontrato una ridotta espressione della proteina MECP2 e il membro 3 della sottofamiglia C del canale cationico del potenziale transitorio del recettore (TRPC3) nei tessuti placentari di donne con GDM, come conseguenza dell'aumento di miR-98, soprattutto nelle donne con GDM di età superiore ai 35 anni. Inoltre, è stato riscontrato come l'aumentata espressione di miR-98 fosse associata ad un aumento dei livelli globali di metilazione del DNA. Pertanto, questo studio ha dimostrato che miR-98 non solo influisce direttamente su MECP2, ma regola anche indirettamente i geni bersaglio di MECP2. Questi risultati mostrano che l'espressione di miR-98 potrebbe suggerire un nuovo meccanismo di regolazione nel GDM tramite MECP2-TRPC3. Degno di nota lo studio di Houshmand-Oeregaard et al. (127): essi furono i primi a dimostrare che l'esposizione all'iperglicemia intrauterina era associata ad un'aumentata espressione di miR-15a e miR-15b nelle cellule muscolari scheletriche in soggetti di età compresa tra 26 e 35 anni.

È stato suggerito che l'obesità, il diabete, l'ipertensione ed il rischio di CVD nella prole possano essere influenzati da modifiche epigenetiche che si verificano a livello degli ovociti (128) e, in tal senso, alcuni studi sull'uomo hanno valutato gli effetti dell'iperglicemia sulla metilazione del DNA negli ovociti. Wang et al. (129), utilizzando un modello di maturazione *in vitro*, hanno mostrato gli effetti dell'elevata concentrazione di glucosio sulla metilazione del DNA degli ovociti umani.

MODIFICAZIONI EPIGENETICHE INDOTTE DALLO STILE DI VITA

Negli ultimi anni, studi su modelli animali e sull'uomo hanno dimostrato una correlazione tra i fattori legati allo stile di vita e le modifiche epigenetiche, identificando come le diverse esposizioni nella prima infanzia possano influenzare gli outcomes del nascituro.

Tabella 4*Studi sui miRNAs nelle donne affette da GDM e nella prole*

Riferimento	Disegno dello studio	N° Partecipanti	Criteri GDM	Tessuto (settimana gestazionale)	Principali Risultati
Zhao et al. 2011 (122)	Caso-controllo	48 (24 GDM)	50 g GCT se positivo seguito da 3 ore 75 g OGTT in accordo ai criteri ADA 2003	Siero Materno (16 ^a -19 ^a)	Down regolazione di miR-132 miR-29a miR-222
Shi et al. 2014 (125)	Caso-controllo	26 (13 GDM)	ADA 2006	Tessuto adiposo omentale materno (parto cesareo 38 ^a -39 ^a)	Up regolazione di miR-222 e correlazione inversa con i livelli di proteine ER α e GLUT4
Zhu et al. 2015 (124)	Caso-controllo	20 (10 GDM)	50 g GCT se positivo seguito da 3 ore 75 g OGTT ADA 2011	Plasma Materno (16 ^a -19 ^a)	Up regolazione di hsa-miR-16-5p hsa-miR-17-5p hsa-miR-19a-3p hsa-miR-19b-3p hsa-miR-20a-5p
Cao et al. 2016 (126)	Caso-controllo	395 (193 GDM)	IADPSG 2010	Placenta (37 ^a -40 ^a)	Up regolazione di miR-98 associata ad una globale metilazione del DNA
Tagoma et al. 2018 (123)	Caso-controllo	22 (13 GDM)	IADPSG 2010	Plasma Materno (23 ^a -31 ^a)	Up regolazione di miR-195-5p
Houshmand-Oeregaard et al. 2018 (127)	monitoraggio osservazionale	206 nati (82 da madri affette da GDM 67 da madri affette da T1D 57 controlli)	Madri = OGTT nelle donne a rischio con due valori di glicemia a digiuno consecutivi $\geq 4,1$ mmol/L Prole = 2 ore 75 g OGTT secondo i criteri WHO 2006	tessuto muscolare scheletrico (26-35 anni)	Up regolazione di miR-15a, miR-15b nei nati da madri affetti da GDM e T1D

GDM, Diabete Mellito Gestazionale; GCT, Glucose Challenge Test; OGTT, oral glucose tolerance test; ADA, American Diabetes Association; IADPSG, International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups; T1D, Diabete di Tipo 1; WHO, Organizzazione Mondiale della Sanità, World Health Organization.

A questo proposito, le gestanti sono inevitabilmente esposte a diversi insulti ambientali di natura eterogenea: l'alimentazione, l'attività fisica, il fumo di tabacco, il consumo di alcol, gli inquinanti ambientali, lo stress sono tutti fattori in grado di influenzare i meccanismi epigenetici (130-138).

EFFETTI SESSO-SPECIFICI NEL NASCITURO

Vari studi su modelli animali hanno dimostrato che i figli maschi e le figlie femmine presentano risposte diverse in seguito alla stessa esposizione nella prima infanzia (85,86,139,140). Alcuni studi hanno mostrato che il sesso del nascituro può influenzare la risposta alla dieta materna; infatti, le figlie di madri alimentate con un alto contenuto di grassi mostravano livelli plasmatici di leptina più elevati (141), pressione arteriosa più elevata

(86) ed il fegato di più piccole dimensioni rispetto a quello della controparte maschile (139), mentre i figli maschi presentavano differenze nel loro trascrittoma (140). Gabory et al. (142) studiando la placenta di topo, hanno osservato differenze funzionali specifiche per sesso basate sia su dati epigenetici che di trascrittomica in risposta alla dieta. In dettaglio, gli autori hanno riportato che maschi e femmine differivano per alcuni pathways genici correlati al metabolismo degli aminoacidi, allo sviluppo e alla funzione del sistema vascolare e al metabolismo del glucosio e dei grassi acidi. Questa specificità legata al sesso porta a considerare l'impatto del sesso del nascituro anche sui modelli epigenetici indotti dall'esposizione al GDM. Nell'uomo, una metanalisi condotta su 20 studi ha mostrato un aumento del rischio di GDM nella madre se il feto è di sesso maschile (143). Inoltre, il sesso maschile vedeva disfunzioni delle cellule

β e una glicemia postprandiale più elevata suggerendo una probabile influenza sul metabolismo del glucosio materno durante la gravidanza (144). Il GDM, se il feto è di sesso femminile, ha dimostrato essere correlato ad un rischio futuro complessivo di progressione precoce di T2DM (145). O'Neill et al. (146) caratterizzando il metaboloma del liquido amniotico del 2° trimestre di gravidanza, hanno identificato 44 e 58 metaboliti alterati in seguito all'esposizione al GDM rispettivamente nella prole di sesso maschile e femminile. I cambiamenti significativi coinvolgevano il metabolismo del glucosio, il glutazione, gli acidi grassi, gli sfingolipidi e gli acidi biliari, con cambiamenti specifici identificati in base al sesso del nascituro. Questi risultati evidenziano la necessità di eseguire studi più ampi sull'uomo che possano confrontare più dettagliatamente gli effetti del GDM sulla prole in entrambi i sessi.

CONTRIBUTO PATERNO

Va sottolineato che, sebbene la letteratura si concentri principalmente sugli effetti materni, anche il ruolo del contributo paterno nel modulare la salute del futuro nascituro merita attenzione (147). Infatti, diversi studi hanno dimostrato alterazioni epigenetiche del DNA spermatico correlate all'esposizione paterna a vari contaminanti, alimentazione e stile di vita (148,149).

Il nuovo e crescente campo dell'epigenetica transgenerazionale ha introdotto il paradigma "*paterno delle origini della salute e delle malattie (POHaD)*" (150).

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

L'iperglicemia in gravidanza ha effetti sul nascituro che vanno oltre la gravidanza stessa, esponendo il figlio al rischio di sviluppare T2DM, sindrome metabolica e malattie cardiovascolari. Sebbene alcuni autori forniscano intuizioni interessanti su possibili meccanismi epigenetici che possano contribuire alla programmazione a lungo termine delle malattie croniche, sono necessari ulteriori studi di grandi dimensioni per meglio comprendere il contributo di essi. Ricerche recenti si sono concentrate rispettivamente sui periodi peri-concezionale, intrauterino e postnatale come i più influenti nella programmazione fetale. Il periodo peri-concezionale può rappresentare la migliore finestra di opportunità per prevenire la programmazione fetale delle NCD. Yajnik et al. (151) hanno definito la gametogenesi, la fecondazione, l'impianto, l'embrionogenesi e la placentazione come periodi di prevenzione "primordiale". Questi autori hanno suggerito che non solo l'eredità genetica modella il futuro del feto in crescita, ma anche le influenze epigenetiche, definite "malleabili", giocano un ruolo importante (151). In effetti, le alterazioni epigenetiche sono una componente modificabile della trasmissione inter-generazionale dei tratti fenotipici e quindi possono fornire nuove prospettive interessanti di prevenzione e trattamento verso diverse patologie come obesità, diabete, malattie cardiovascolari, disturbi neuropsichiatrici e tumori. Recenti studi epidemiologici e sperimentali hanno dimostrato

l'importanza e l'efficacia di possibili future analisi epigenetiche prognostiche in ambito sanitario. A questo proposito, è stato dimostrato che il GDM interferisce con i sistemi cellulari e lo sviluppo degli organi influenzando la salute nei primi anni di vita del nascituro. In effetti, un numero crescente di studi ha identificato varianti nutrigenetiche di suscettibilità al GDM (9,56,57) e alterazioni epigenetiche (110,152,153,154) che partecipano alla complessità dello stato metabolico sia delle madri affette da GDM che del nascituro. Nell'ultimo decennio, il concetto di microbioma è stato oggetto di un crescente interesse e la conoscenza in questo settore è in continua espansione, suggerendo potenziali meccanismi che sono in grado di correlare la salute materna al microbiota neonatale (155,156). Si sottolinea anche che entrambi, microbioma materno e fetale, potrebbero essere influenzati dal GDM (155) e la comprensione degli effetti della trasmissione microbica materno-fetale e della colonizzazione durante la prima infanzia potrebbe chiarire l'impatto a lungo termine sulla salute del nascituro e sviluppare strategie di intervento in modo tempestivo. La conoscenza dei meccanismi molecolari che sono alla base delle conseguenze sulla salute in seguito ad una esposizione sfavorevole nell'utero, come nel GDM, aiuterà a sviluppare strategie preventive prenatali efficaci per limitare il circolo vizioso nelle future generazioni. È fondamentale stabilire come i modelli alimentari, i nutrienti, i composti bioattivi e l'esercizio fisico possano influenzare l'epigenoma modulando lo sviluppo dei disturbi metabolici. Sarà necessario, quindi, un approccio multidisciplinare combinando, studi clinici, biologici, e tutte le "omiche" (inclusendo dati nutrigenetici, epigenomici e metagenomici) ed in cui la nutrigenetica e l'epigenetica nel GDM possano fornire spunti e approfondimenti per la prevenzione delle malattie croniche non trasmissibili sin dalla vita intrauterina.

CONFLITTO DI INTERESSE

Marica Franzago è supportata dalla Fondazione Umberto Veronesi

BIBLIOGRAFIA

1. Dinu M, Pagliai G, Casini A, et al. Mediterranean diet and multiple health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. *Eur J Clin Nutr* 2018;72:30-43.
2. Berná G, Oliveras-López MJ, Jurado-Ruiz E, et al. Nutrigenetics and nutrigenomics insights into diabetes etiopathogenesis. *Nutrients* 2014;6:5338-69.
3. Vazquez-Vidal I, Desmarchelier C, Jones PJH. Nutrigenetics of blood cholesterol concentrations: towards personalized nutrition. *Curr Cardiol Rep* 2019;21:38.
4. Franzago M, Di Nicola M, Fraticelli F, et al. Nutrigenetic variants and response to diet/lifestyle intervention in obese subjects: a pilot study. *Acta Diabetol* 2022;59:69-81.
5. Karaderi T, Drong AW, Lindgren CM. Insights into the genetic susceptibility to type 2 diabetes from genome-wide association studies of obesity-related traits. *Curr*

- Diab Rep 2015;15:83.
6. Wang X, Strizich G, Hu Y, et al. Qi Q Genetic markers of type 2 diabetes: progress in genome-wide association studies and clinical application for risk prediction. *J Diabetes* 2016;8:24-35.
 7. Ding M, Chavarro J, Olsen S, et al. Genetic variants of gestational diabetes mellitus: a study of 112 SNPs among 8722 women in two independent populations. *Diabetologia* 2018;61:1758-68.
 8. Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. Non-genomic transgenerational inheritance of disease risk. *Bioessays* 2007;29:145-54.
 9. Schwenk RW, Vogel H, Schürmann A. Genetic and epigenetic control of metabolic health. *Mol Metab* 2013;2:337-47.
 10. Franzago M, Santurbano D, Vitacolonna E, et al. Genes and diet in the prevention of chronic diseases in future generations. *Int J Mol Sci* 2020;21:2633.
 11. Christensen BC, Marsit CJ. Epigenomics in environmental health. *Front Genet* 2011;2:84.
 12. Boekelheide K, Blumberg B, Chapin RE, et al. Predicting later-life outcomes of early-life exposures. *Environ Health Perspect* 2012;120:1353-61.
 13. Tobi EW, Sliker RC, Luijk R, et al. DNA methylation as a mediator of the association between prenatal adversity and risk factors for metabolic disease in adulthood. *Sci Adv* 2018;4:4364.
 14. Blackmore HL, Ozanne SE. Maternal diet-induced obesity and offspring cardiovascular health. *J Dev Orig Health Dis* 2013;4:338-47.
 15. Heindel JJ, Balbus J, Birnbaum L, et al. Developmental origins of health and disease: integrating environmental influences. *Endocrinology* 2015;156:3416.
 16. Franzago M, La Rovere M, Guanciali Franchi P, et al. Epigenetics and human reproduction: the primary prevention of the noncommunicable diseases. *Epigenomics* 2019;11:1441-60.
 17. Lovely C, Rampersad M, Fernandes Y, Eberhart J. Gene-environment interactions in development and disease. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2017;6:10.1002/wdev.24.
 18. Ma RC, Tutino GE, Lillycrop KA, et al. Maternal diabetes, gestational diabetes and the role of epigenetics in their long term effects on offspring. *Prog Biophys Mol Biol* 2015;118:55-68.
 19. Gagné-Ouellet V, Houde AA, Guay SP, et al. Placental lipoprotein lipase DNA methylation alterations are associated with gestational diabetes and body composition at 5 years of age. *Epigenetics* 2017;12:616-25
 20. Godfrey KM, Reynolds RM, Prescott SL, et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5:53-64
 21. Agarwal P, Morriseau TS, Kereliuk SM, et al. Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55:71-101
 22. American Diabetes Association. *Standards of Medical Care in Diabetes - 2022* Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes* 2022;40:10-38
 23. Hod M, Kapur A, Sacks A, et al. The international Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO). Initiative on gestational diabetes mellitus: a pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *J Gynecol Obstet* 2015;131 Suppl 3:S173-211.
 24. Saeedi M, Cao Y, Fadl H, et al. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus when implementing the IADPSG criteria: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 2021;172:108642.
 25. Rayanagoudar G, Hashi AA, Zamora J, et al. Quantification of the type 2 diabetes risk in women with gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis of 95,750 women. *Diabetologia* 2016;59:1403-11.
 26. Burlina S, Dalfrà MG, Lapolla A. Clinical and biochemical approach to predicting post-pregnancy metabolic decompensation. *Diabetes Res Clin Pract* 2018;145:178-83.
 27. Metzger BE, the HAPO Study Cooperative Research Group. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study. Associations with neonatal anthropometrics. *Diabetes* 2009;58:453-9.
 28. Freinkel N. Banting Lecture 1980: of pregnancy and progeny. *Diabetes* 1980;29:1023-35.
 29. Lowe WL Jr, Scholtens DM, Lowe LP, et al. Association of gestational diabetes with maternal disorders of glucose metabolism and childhood adiposity. *JAMA* 2018;320:1005-16.
 30. Sweeting A, Wong J, Murphy HR, et al. A clinical update on gestational diabetes mellitus. *Endocr Reviews*, 2022;bnac00. doi: 10.1210/edrv/bnac003
 31. Zhu Y, Zhang C. Prevalence of gestational diabetes and risk of progression to type 2 diabetes: a global perspective. *Curr Diab Rep* 2016;16:7.
 32. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, et al. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci* 2018;19:3342.
 33. Zhang C, Ning Y. Effect of dietary and lifestyle factors on the risk of gestational diabetes: review of epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 2011;94:1975S-9S.
 34. Murphy R. Monogenic diabetes and pregnancy. *Obstet Med* 2015;8:114-20.
 35. Haller-Kikkatalo K, Uibo R. Clinical recommendations for the use of islet cell autoantibodies to distinguish autoimmune and non-autoimmune gestational diabetes. *Clin Rev Allergy Immunol* 2016;50:23-33.
 36. Bitterman O, Giuliani C, Napoli A. Il diabete monogenico da deficit di glucochinasi in gravidanza. *L'Endocrinologo* 2020;21:202-7.
 37. Zhang C, Bao W, Rong Y, et al. Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2013;19:376-90.
 38. Fraylin TM. Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. *Nat Rev Genet* 2007;8:657-62.
 39. McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med* 2010;363:2339-50.
 40. Lowe WL jr, Scholtens DM, Victoria S, et al. Genetics of gestational diabetes mellitus and maternal metabolism. *Curr Diab Rep* 2016;16:15.
 41. Stover PJ, James WPT, Krook A, et al. Emerging concepts on the role of epigenetics in the relationships between nutrition and health. *J Intern Med* 2018;284:37-49.
 42. Simopoulos AP. Nutrigenetics/nutrigenomics. *Annu Rev Public Health* 2010;31:53-68
 43. Phillips CM, Tierney AC, Roche HM. Gene-nutrient interactions in the metabolic syndrome. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2008;1:136-151.
 44. Roche HM, Phillips C, Gibney MJ. The metabolic syndrome: the crossroads of diet and genetics. *Proc Nutr Soc* 2005;64:371-7.
 45. Phillips C, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F, et al. Genetic and nutrient determinants of the metabolic syndrome. *Curr Opin Cardiol* 2006;21:185-93.
 46. Molerés A, Ochoa MC, Rendo-Urteaga T, et al. Dietary fatty acid distribution modifies obesity risk linked to the rs9939609 polymorphism of the fat mass and obesity-associated gene in a Spanish case-control study of children. *Br J Nutr* 2012;107:533-8.
 47. Ortega-Azorín C, Sorlí JV, Asensio EM, et al. Associations of the FTO rs9939609 and the MC4R rs17782313 polymorphisms with type 2 diabetes are modulated by

- diet, being higher when adherence to the Mediterranean diet pattern is low. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:137.
48. Luan J, Browne PO, Harding AH, et al. Evidence for gene-nutrient interaction at the PPARgamma locus. *Diabetes* 2001;50:686-9.
 49. Fisher E, Boeing H, Fritsche A, et al. Whole-grain consumption and transcription factor-7-like 2 (TCF7L2) rs7903146: gene-diet interaction in modulating type 2 diabetes risk. *Br J Nutr* 2009;101:478-81
 50. Hindy G, Sonestedt E, Ericson U, et al. Role of TCF7L2 risk variant and dietary fibre intake on incident type 2 diabetes. *Diabetologia* 2012;55:2646-54.
 51. Wirstrom T, Hilding A, Gu HF, et al. Consumption of whole grain reduces risk of deteriorating glucose tolerance, including progression to prediabetes. *Am J Clin Nutr* 2013;97:179-87.
 52. López-Ortiz MM, Garay-Sevilla ME, Tejero ME, et al. Analysis of the interaction between transcription factor 7-like 2 genetic variants with nopal and wholegrain fibre intake: effects on anthropometric and metabolic characteristics in type 2 diabetes patients. *Br J Nutr* 2016;116:969-78.
 53. Lai CQ, Corella D, Demissie S, et al. Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerides, remnant lipoprotein concentrations, and lipoprotein particle size: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2006;113:2062-70.
 54. Kang R, Kim M, Chae JS, et al. Consumption of whole grains and legumes modulates the genetic effect of the APOA5-1131C variant on changes in triglyceride and apolipoprotein A-V concentrations in patients with impaired fasting glucose or newly diagnosed type 2 diabetes. *Trials* 2014;15:100.
 55. Corella D, Lai CQ, Demissie S, et al. APOA5 gene variation modulates the effects of dietary fat intake on body mass index and obesity risk in the Framingham Heart Study. *J Mol Med (Berl)* 2007;85: 119-28.
 56. Franzago M, Fraticelli F, Nicolucci A, et al. Molecular analysis of a genetic variants panel related to nutrients and metabolism: association with susceptibility to gestational diabetes and cardiometabolic risk in affected women. *J Diabetes Res* 2017;2017:4612623.
 57. Franzago M, Fraticelli F, Marchetti D, et al. Nutrigenetic variants and cardio-metabolic risk in women with or without gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2018;137:64-71.
 58. Franzago M, Fraticelli F, Di Nicola M, et al. Early subclinical atherosclerosis in gestational diabetes: the predictive role of routine biomarkers and nutrigenetic variants. *J Diabetes Res* 2018;2018:9242579.
 59. Berná G, Oliveras-López MJ, Jurado-Ruíz E, et al. Nutrigenetics and nutrigenomics insights into diabetes etiopathogenesis. *Nutrients* 2014;6:5338-536
 60. Del Rosario MC, Ossowski V, Knowler WC, et al. Potential epigenetic dysregulation of genes associated with MODY and type 2 diabetes in humans exposed to a diabetic intrauterine environment: an analysis of genome-wide DNA methylation. *Metabolism* 2014;63:654-60.
 61. Chen P, Piaggi P, Traurig M, et al. Differential methylation of genes in individuals exposed to maternal diabetes in utero. *Diabetologia* 2017;60:645-55.
 62. Houshmand-Oeregaard A, Hjort L, Kelstrup L, et al. DNA methylation and gene expression of TXNIP in adult offspring of women with diabetes in pregnancy. *PLoS One* 2017;12:e0187038.
 63. Liyanage VR, Jarmasz JS, Murugesan N, et al. DNA modifications: function and applications in normal and disease States. *Biology (Basel)* 2014;3:670-723.
 64. Dolinoy DC, Weidman JR, Jirtle R. Epigenetic gene regulation: linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol* 2007;23:297-307.
 65. Auclair G, Weber M. Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. *Biochimie* 2012;94:2202-11.
 66. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007;128:693-705.
 67. Lawrence M, Dajvat S, Schneider R. Lateral thinking: how histone modifications regulate gene expression. *Trends Genet* 2016;32:42-56.
 68. Esguerra JLS, Mollet IG, Salunkhe VA, et al. Regulation of pancreatic beta cell stimulus-secretion coupling by microRNAs. *Genes (Basel)* 2014;5:1018-31.
 69. Wilczynska A, Bushell M. The complexity of miRNA-mediated repression. *Cell Death Differ* 2015;22:22-33.
 70. Kaspi H, Pasvolosky R, Hornstein E. Could microRNAs contribute to the maintenance of b cell identity? *Trends Endocrinol Metab* 2014;25:285-92.
 71. Ibarra A, Vega-Guedes B, Brito-Casillas Y, et al. Diabetes in pregnancy and MicroRNAs: promises and limitations in their clinical application. *Noncoding RNA* 2018;4:32.
 72. Guarino E, Delli Poggi C, Grieco GE, et al. Circulating MicroRNAs as biomarkers of gestational diabetes mellitus: updates and perspectives. *Int J Endocrinol* 2018;2018:6380463.
 73. Hernández-Aguilera A, Fernández-Arroyo S, Cuyàs E, et al. Epigenetics and nutrition-related epidemics of metabolic diseases: current perspectives and challenges. *Food Chem Toxicol* 2016;96:191-204.
 74. Mochizuki K, Hariya N, Honma K, et al. Relationship between epigenetic regulation, dietary habits, and the developmental origins of health and disease theory. *Congenit Anom (Kyoto)* 2017;57:184-90.
 75. CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992;35:595-601.
 76. El Hajj N, Schneider E, Lehnen H, et al. Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment. *Reproduction* 2014;148:R111-20.
 77. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, et al. Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. *Diabetes* 2011;60:1528-34.
 78. Davison JM, Mellott TJ, Kovacheva VP, et al. Gestational choline supply regulates methylation of histone H3, expression of histone methyltransferases G9a (Kmt1c) and Suv39h1 (Kmt1a), and DNA methylation of their genes in rat fetal liver and brain. *J Biol Chem* 2009;284:1982-9.
 79. Tosh DN, Fu Q, Callaway CW, et al. Epigenetics of programmed obesity: alteration in IUGR rat hepatic IGF1 mRNA expression and histone structure in rapid vs. delayed postnatal catch-up growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010;299:G1023-9.
 80. Strakovsky RS, Zhang X, Zhou D, et al. Gestational high fat diet programs hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression and histone modification in neonatal offspring rats. *J Physiol* 2011;589:2707-17.
 81. Borengasser SJ, Zhong Y, Kang P, et al. Maternal obesity enhances white adipose tissue differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring. *Endocrinology* 2013;154:4113-25.
 82. Zhang Y, Wang H, Zhou D, et al. High-fat diet caused widespread epigenomic differences on hepatic methylome in rat. *Physiol Genomics* 2015;47:514-23.
 83. Wankhade UD, Zhong Y, Kang P, et al. Enhanced offspring predisposition to steatohepatitis with maternal high-fat diet is associated with epigenetic and microbiome alterations. *PLoS One* 2017;12: e0175675.
 84. Moody L, Chen H, Pan YX. Postnatal diet remodels hepatic DNA methylation in metabolic pathways established by a

- maternal high-fat diet. *Epigenomics* 2017;9:1387-402.
85. Keleher MR, Zaidi R, Shah S, et al. Maternal high-fat diet associated with altered gene expression, DNA methylation, and obesity risk in mouse offspring. *PLoS One* 2018;13:e0192606.
 86. Khan I, Dekou V, Hanson M, et al. Predictive adaptive responses to maternal high-fat diet prevent endothelial dysfunction but not hypertension in adult rat offspring. *Circulation* 2004;110:1097-102.
 87. Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 2004;305:1733-6.
 88. Gluckman PD, Hanson MA, Low FM. The role of developmental plasticity and epigenetics in human health. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2011;93:12-18.
 89. Bateson P, Gluckman P, Hanson M. The biology of developmental plasticity and the predictive adaptive response hypothesis. *J Physiol* 2014;592:2357-68.
 90. Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T. A conceptual framework for the developmental origins of health and disease. *J Dev Orig Health Dis* 2010;1:6-18.
 91. Roseboom TJ, van der Meulen JH, Ravelli AC, et al. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Mol Cell Endocrinol* 2001;185:93-8.
 92. Painter RC, Roseboom TJ, Bleker OP. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reprod Toxicol* 2005;20:345-52.
 93. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17046-9.
 94. Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Mechanisms linking suboptimal early nutrition and increased risk of type 2 diabetes and obesity. *J Nutr* 2010;140:662-6.
 95. Seki Y, Williams L, Vuguin PM, et al. Minireview: epigenetic programming of diabetes and obesity: animal models. *Endocrinology* 2012;153:1031-8.
 96. Quilter CR, Cooper WN, Cliffe KM, et al. Impact on offspring methylation patterns of maternal gestational diabetes mellitus and intrauterine growth restraint suggest common genes and pathways linked to subsequent type 2 diabetes risk. *FASEB J* 2014;28:4868-79.
 97. EM, Torloni MR, Falavigna M, et al. Gestational diabetes and pregnancy outcomes—a systematic review of the World Health Organization (WHO) and the International Association of Diabetes in Pregnancy Study Groups (IADPSG) diagnostic criteria. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2012;12:23.
 98. Block T, El-Osta A. Epigenetic programming, early life nutrition and the risk of metabolic disease. *Atherosclerosis* 2017;266:31-40.
 99. Boney CM, Verma A, Tucker R, et al. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics* 2005;115:e290-6.
 100. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Lamichhane AP, et al. Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth: the SEARCH case-control study. *Diabetes Care* 2008;31:1422-6.
 101. Desoye G, Wells JC. Pregnancies in diabetes and obesity: the capacity-load model of placental adaptation. *Diabetes*, 2021;70:823-30.
 102. Nelissen EC, van Montfoort AP, Dumoulin JC, et al. Epigenetics and the placenta. *Hum Reprod Update* 2011;17:397-417.
 103. Jiang Y, Yu YC, Ding GL, et al. Intrauterine hyperglycemia induces intergenerational Dlk1-Gtl2 methylation changes in mouse placenta. *Oncotarget* 2018;9:22398-405.
 104. Reichetzedder C, Dwi Putra SE, Pfab T, et al. Increased global placental DNA methylation levels are associated with gestational diabetes. *Clin Epigenetics* 2016;8:82.
 105. Bouchard L, Thibault S, Guay SP, et al. Leptin gene epigenetic adaptation to impaired glucose metabolism during pregnancy. *Diabetes Care* 2010;33:2436-41.
 106. Bouchard L, Hivert MF, Guay SP, et al. Placental adiponectin gene DNA methylation levels are associated with mothers' blood glucose concentration. *Diabetes* 2012;61:1272-80.
 107. Houde AA, Guay SP, Desgagné V, et al. Adaptations of placental and cord blood ABCA1 DNA methylation profile to maternal metabolic status. *Epigenetics* 2013;8:1289-302.
 108. Houde AA, St-Pierre J, Hivert MF, et al. Placental lipoprotein lipase DNA methylation levels are associated with gestational diabetes mellitus and maternal and cord blood lipid profiles. *J Dev Orig Health Dis* 2014;5:132-41.
 109. Houde AA, Ruchat SM, Allard C, et al. LRP1B, BRD2 and CACNA1D: new candidate genes in fetal metabolic programming of newborns exposed to maternal hyperglycemia. *Epigenomics* 2015;7:1111-22.
 110. Ruchat SM, Houde AA, Voisin G, et al. Gestational diabetes mellitus epigenetically affects genes predominantly involved in metabolic diseases. *Epigenetics* 2013;8:935-43.
 111. Desgagne V, Hivert MF, St-Pierre J, et al. Epigenetic dysregulation of the IGF system in placenta of newborns exposed to maternal impaired glucose tolerance. *Epigenomics* 2014;6:193-207.
 112. Petropoulos S, Guillemin C, Ergaz Z, et al. Gestational diabetes alters offspring DNA methylation profiles in human and rat: identification of key pathways involved in endocrine system disorders, insulin signaling, diabetes signaling, and ILK signaling. *Endocrinology* 2015;156:2222-38.
 113. El Hajj N, Pliushch G, Schneider E, et al. Metabolic programming of MEST DNA methylation by intrauterine exposure to gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 2013;62:1320-8.
 114. Garcia-Cardona MC, Huang F, Garcia-Vivas JM, et al. DNA methylation of leptin and adiponectin promoters in children is reduced by the combined presence of obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* 2014;38:1457-65.
 115. Côté S, Gagné-Ouellet V, Guay SP, et al. PPARGC1 α gene DNA methylation variations in human placenta mediate the link between maternal hyperglycemia and leptin levels in newborns. *Clin Epigenetics* 2016;8:72.
 116. Houshmand-Oeregaard A, Hansen NS, Hjort L, et al. Differential adipokine DNA methylation and gene expression in subcutaneous adipose tissue from adult offspring of women with diabetes in pregnancy. *Clin Epigenetics* 2017;9:37.
 117. Ott R, Stupin JH, Melchior K, et al. Plagemann A Alterations of adiponectin gene expression and DNA methylation in adipose tissues and blood cells are associated with gestational diabetes and neonatal outcome. *Clin Epigenetics* 2018;10:131.
 118. Ott R, Melchior K, Stupin JH, et al. Plagemann A insulin receptor expression and altered DNA methylation in fat tissues and blood of women with GDM and offspring. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:137-49.
 119. Franzago M, Lanuti P, Fraticelli F, et al. Biological insight into the extracellular vesicles in women with and without gestational diabetes. *J Endocrinol Invest* 2021;44:49-61.
 120. Gillet V, Ouellet A, Stepanov Y, et al. miRNA Profiles in Extracellular Vesicles From Serum Early in Pregnancies Complicated by Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:5157-69.

121. Yang X, Wu N. MicroRNAs and Exosomal microRNAs May Be Possible Targets to Investigate in Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2022;15:321-30.
122. Zhao C, Dong J, Jiang T, et al. Early second-trimester serum miRNA profiling predicts gestational diabetes mellitus. *PLoS One* 2011;6:e23925. .
123. Tagoma A, Alnek K, Kirss A, et al. MicroRNA profiling of second trimester maternal plasma shows upregulation of miR-195-5p in patients with gestational diabetes. *Gene* 2018;672:137-42.
124. Zhu Y, Tian F, Li H, et al. Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus. *Int J Gynaecol Obstet* 2015;130:49-53.
125. Shi Z, Zhao C, Guo X, et al. Differential expression of microRNAs in omental adipose tissue from gestational diabetes mellitus subjects reveals miR-222 as a regulator of ER α expression in estrogen-induced insulin resistance. *Endocrinology* 2014;155:1982-90.
126. Cao JL, Zhang L, Li J, et al. Up-regulation of miR-98 and unraveling regulatory mechanisms in gestational diabetes mellitus. *Sci Rep* 2016;6:32268.
127. Houshmand-Oeregaard A, Schrölkamp M, Kelstrup L, et al. Increased expression of microRNA-15a and microRNA-15b in skeletal muscle from adult offspring of women with diabetes in pregnancy. *Hum Mol Genet* 2018;27:1763-71.
128. Ge ZJ, Luo SM, Lin F, et al. DNA methylation in oocytes and liver of female mice and their offspring: effects of high-fat-diet-induced obesity. *Environ Health Perspect* 2014;122:159-64.
129. Wang Q, Tang SB, Song XB, et al. High-glucose concentrations change DNA methylation levels in human IVM oocytes. *Hum Reprod* 2018;33:474-81.
130. Alegría-Torres JA, Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics* 2011;3:267-77.
131. Palma-Gudiel H, Cirera F, Crispi F, et al. The impact of prenatal insults on the human placental epigenome: A systematic review. *Neurotoxicol Teratol* 2018;66:80-93.
132. Shah NR, Bracken MB. A systematic review and meta-analysis of prospective studies on the association between maternal cigarette smoking and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:465-72.
133. Fa S, Larsen TV, Bilde K, et al. Assessment of global DNA methylation in the first trimester fetal tissues exposed to maternal cigarette smoking. *Clin Epigenetics* 2016;8:128.
134. Laker RC, Lillard TS, Okutsu M, et al. Exercise prevents maternal high-fat diet-induced hypermethylation of the Pgc-1 α gene and age-dependent metabolic dysfunction in the offspring. *Diabetes* 2014;63:1605-11.
135. Chan JC, Nugent BM, Bale TL. Parental advisory: maternal and paternal stress can impact offspring neurodevelopment. *Biol Psychiatry* 2018;83:886-94.
136. Palma-Gudiel H, Córdova-Palomera A, Eixarch E, et al. Maternal psychosocial stress during pregnancy alters the epigenetic signature of the glucocorticoid receptor gene promoter in their offspring: a meta-analysis. *Epigenetics* 2015;10:893-902.
137. Liu Y, Chen S, Pang D, et al. Effects of paternal exposure to cigarette smoke on sperm DNA methylation and long-term metabolic syndrome in offspring. *Epigenetics Chromatin* 2022;15:3.
138. Pepin AS, Lafleur C, Lambrot R, et al. Sperm Histone H3 Lysine 4 tri-methylation serves as a metabolic sensor of paternal obesity and is associated with the inheritance of metabolic dysfunction. *Mol Metab* 2022;59:101463.
139. Miller C, Krishna S, Zhoumeng L, et al. Early sex differences in hepatic metabolic signaling in offspring of obese female mice. *FASEB.* 2014;28 Supp 1033.11.
140. Mischke M, Pruis MGM, Boekschoten MV, et al. Maternal western-style high fat diet induces sex-specific physiological and molecular changes in two-week-old mouse offspring. *PLoS ONE* 2013;8:e78623.
141. Bellisario V, Berry A, Capoccia S, et al. Genderdependent resiliency to stressful and metabolic challenges following prenatal exposure to high-fat diet in the p66Shc $-/-$ mouse. *Front Behav Neurosci* 2014;8:285.
142. Gabory A, Ferry L, Fajardy I, et al. Maternal diets trigger sex-specific divergent trajectories of gene expression and epigenetic systems in mouse placenta. *PLoS One* 2012;7:e47986.
143. Jaskolka D, Retnakaran R, Zinman B, et al. Sex of the baby and risk of gestational diabetes mellitus in the mother: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* 2015;58:2469-75.
144. Retnakaran R, Kramer CK, Ye C, et al. Fetal sex and maternal risk of gestational diabetes mellitus: the impact of having a boy. *Diabetes Care* 2015;38:844-51.
145. Retnakaran R, Shah BR. Sex of the baby and future maternal risk of Type 2 diabetes in women who had gestational diabetes. *Diabet Med* 2016;33:956-60.
146. O'Neill K, Alexander J, Azuma R, et al. Gestational diabetes alters the metabolomic profile in 2nd trimester amniotic fluid in a sex-specific manner. *Int J Mol Sci* 2018;19:e2696.
147. Stuppia L, Franzago M, Ballerini P, et al. Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clin Epigenetics* 2015;11:120.
148. Champroux A, Cocquet J, Henry-Berger J, et al. A decade of exploring the mammalian sperm epigenome: paternal epigenetic and transgenerational inheritance. *Front Cell Dev Biol* 2018;6:50.
149. Franzago M, Sabovic I, Franchi S, et al. Sperm DNA methylation at metabolism-related genes in vegan. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021;12:633943.
150. Soubry A. POHaD: why we should study future fathers. *Environ Epigenet* 2018;4:dvj007.
151. Yajnik CS. Transmission of obesity-adiposity and related disorders from the mother to the baby. *Ann Nutr Metab* 2014;64:8-17.
152. Franzago M, Fraticelli F, Marchioni M, et al. Fat mass and obesity-associated (FTO) gene epigenetic modifications in gestational diabetes: new insights and possible pathophysiological connections. *Acta diabetologica* 2021;58: 997-1007.
153. Dalfrà MG, Burlina S, Del Vecovo GG, et al. Genetics and epigenetics: new insight on gestational diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020;11:602477.
154. Franzago M, Porreca A, D'Ardes M, et al. The obesogenic environment: epigenetic modifications in placental melanocortin 4 receptor gene connected to gestational diabetes and smoking. *Front Nutr* 2022;9:879526.
155. Wang J, Zheng J, Shi W, et al. Dysbiosis of maternal and neonatal microbiota associated with gestational diabetes mellitus. *Gut* 2018;67:1614-25
156. de Mendonça ELSS, Fragosso MBT, de Oliveira JM, et al. Gestational diabetes mellitus: the crosslink among inflammation, nitroxidative stress, intestinal microbiota and alternative therapies. *Antioxidants (Basel)* 2022;11:129.