

Revisione dei principali contributi scientifici sul ruolo della genetica ed epigenetica nell'obesità

Augusto Di Vico, Stefano Liguori, Laura Silli, Susanna Rughini, Aldo Liguori

Istituto Paracelso, Roma

«REVISION OF THE MOST IMPORTANT SCIENTIFIC WORKS ON THE GENETIC AND EPIGENETIC PATHWAYS TO OBESITY»

Summary. Following a long debate, during last 20 years, regarding the genetics field of human common traits, we can underline the presence of a wide expression of gene variability, adding a large environment influence, we'll keep the concept that genes will hold our species traits unaltered during the millennia. Although, obesity is the result of an interaction between genetic factors and individual environment. The genetic contribution to interindividual variation in common obesity has been estimated at 40-70%. Yet despite a relatively high heritability, the search for obesity susceptibility genes has been an arduous task. The goal of this review is to check the published works on this matter (genetics and epigenetics influence on gene expression) and underline that according to the recent evident bases the genes associated with risk of obesity are susceptible to epigenetic mutations; the epigenetic markers influence the expression of genes associated with obesity.

Key words: Epigenetics, evolution, obesity, genetics of obesity

Riassunto. Dopo un intenso dibattito, nell'ultimo ventennio, relativo a quanto sia determinante l'aspetto genetico sulle caratteristiche della specie si può concludere che c'è una grande variabilità di espressione a partire da uno stesso corredo cromosomico con una grande influenza ambientale; ma rimane valido il concetto che i geni mantengono nei millenni le nostre caratteristiche di specie. Dunque l'obesità è il risultato di un'interazione tra fattori genetici e fattori ambientali. Nonostante l'alta incidenza dell'ereditarietà nell'obesità comune non sindromica, pari al 40-70% (1), la ricerca per le oltre quaranta varianti genetiche, emerse dagli studi sull'associazione estesa del genoma, non è sufficiente a spiegare l'ereditarietà dell'obesità. C'è dunque un assetto genetico e una regolazione fenotipica che integrandosi determinano l'assetto costituzionale dell'individuo. Lo scopo di questa revisione è quello di esaminare i lavori presenti in letteratura, non solo in campo genetico ma anche quelli riguardanti l'epigenetica dell'obesità visto che allo stato attuale, le modifiche più importanti che si possono apportare all'ereditarietà, in ambito di obesità, sono rappresentate proprio da modifiche epigenetiche ottenibili attraverso la dieta.

Parole chiave: Epigenetica, evoluzione, obesità, genetica dell'obesità

Introduzione

La genetica della nutrizione è costituita da più settori di studio quali la nutrigenomica, la nutrigenetica, l'epigenetica, la transcriptomica, la proteomica e la metabolomica (2).

La nutrigenomica valuta le influenze della dieta sul genoma e correla i risultanti diversi genotipi a differenze della risposta genetica e cellulare del sistema biologico. La transcriptomica analizza l'espressione dei geni in un sistema biologico e in condizioni ambientali specifiche. La proteomica ha lo scopo di caratterizzare

tutte le proteine che compaiono in un sistema biologico, inclusi la loro relativa abbondanza, la distribuzione, le modificazioni post-traslazionali, la funzione e l'interazione con altre molecole biologiche. La metabolomica si riferisce allo studio di prodotti cellulari di piccolo peso molecolare in risposta ai trattamenti dietetici, deve fornire l'analisi quantitativa di tutti i metaboliti che sono presenti in un sistema biologico. Transcriptomica, proteomica, metabolomica, tuttavia, non rappresentano ancora procedure standardizzate e continuano a confrontarsi con problemi tecnici quali la preparazione del campione, la sensibilità analitica e la mancanza di metodi statistici adeguati (2).

La recente "Human Obesity Gene Map" (3): elenca 11 mutazioni genetiche singole, 50 loci relativi alle sindromi Mendeliane di rilievo nell'obesità, 244 modelli animali transgenici o "knockout" e 127 geni candidati, dei quali poco meno del 20% sono replicati in più di cinque studi (2); un totale di 253 "quantitative trait loci", per differenti fenotipi rapportabili all'obesità, sono rapportati a 61 genomi e di questi solo circa il 20% sono supportati da più di uno studio (4).

Assetto genetico negli animali

Con il termine di "Obesità essenziale" si intendono quelle forme di obesità in cui non è stata ancora identificata una esatta patogenesi; tra le varie ipotesi sono stati presi in considerazione di volta in volta, fattori genetici, metabolici, nutrizionali, sociali e culturali. Ad esempio i dati riportati su gemelli monozigoti e dizigoti indicano che l'obesità ha una forte aggregazione familiare. In particolare Strunkard et al (5) hanno dimostrato che il BMI di figli adottivi correla maggiormente con il BMI dei genitori biologici rispetto a quello dei genitori adottivi.

I primi studi riguardanti la presenza di un substrato genetico nell'obesità risalgono agli anni cinquanta, quando venne identificato un ceppo di topi di laboratorio caratterizzato dalla presenza di obesità trasmessa in maniera ereditaria (6). Negli studi successivi sono emersi altri modelli di topi con obesità trasmessa ereditariamente, con mutazioni di un singolo gene, come i topi Ay, Ad. Fat e tub o i ratti del ceppo Zucker. In questi ultimi alcuni autori hanno evidenziato la pre-

senza di una mutazione genetica, autosomica recessiva, localizzata sul locus "fa" del cromosoma 5 (7). Nel 1994 dal gruppo di ricerca di Zhang et al (8) è stato identificato il gene responsabile dell'obesità nei topi ob. Questo gene trasmesso con carattere autosomico recessivo codifica per una proteina specifica, definita successivamente leptina ed espressa sulla superficie della membrana plasmatica degli adipociti. I topi mutanti ob/ob non producono la leptina, a causa di una mutazione puntiforme del gene che la codifica e ciò spiega la presenza di obesità. Il ruolo di questa molecola nella patogenesi dell'obesità nei topi ob/ob è stato dimostrato nello studio di Friedman et al (9). La leptina infatti, induceva un calo ponderale del 40% nei topi ob/ob. Studi condotti dal gruppo di ricerca di Giacobino (10) hanno portato alla scoperta di una ridotta espressione a livello di membrana cellulare del recettore Beta 3, in ratti geneticamente obesi. Questo recettore è espresso sulla superficie esterna del plasmalemma degli adipociti bruni, ed è stato dimostrato essere il principale mediatore della termogenesi e della ossidazione degli acidi grassi nel tessuto adiposo bruno ed inoltre induce lipolisi negli adipociti bianchi.

In ceppi di topi geneticamente obesi (fat/fat) è stato riscontrato un altro difetto genetico riguardante una mutazione puntiforme del gene per la carbossipeptidasi. Un enzima responsabile dell'attivazione di vari ormoni. Un altro fattore proposto per lo sviluppo di obesità negli animali è il fattore di necrosi tumorale (TNF- α); questa citochina sembra che possa influenzare direttamente il metabolismo degli adipociti. Somministrando in vivo TNF- α in animali da laboratorio, è stato rilevato un aumento nei livelli sierici di trigliceridi e di lipoproteine a bassa densità (VLDL) (11). E' stato dimostrato che nel tessuto adiposo c'è un'attiva sintesi di mRNA specifico per il TNF- α e che il tessuto adiposo è il tessuto dove è maggiore la produzione di mRNA. Nello studio di Kern (12) la quota di mRNA per il TNF- α , a livello degli adipociti dei topi obesi è maggiore rispetto a quella che si riscontra negli animali magri.

Assetto genetico nell'uomo

Nella specie umana le forme di obesità, trasmesse ereditariamente, sono molto rare e rappresentano una

piccola parte di tutti i casi di obesità presenti nella popolazione. Tra queste forme ricordiamo la Sindrome di Praeder Willi, la Sindrome di Laurence Moon-Biedl (autosomica recessiva), la sindrome di Allstrom (autosomica recessiva), la sindrome di Morgagni Stewart-Morel (autosomica dominante), la sindrome di Carpenter, Cohen e Down. Del resto esistono prove convincenti che anche nell'obesità non associata ad altre anomalie, siano coinvolti fattori genetici. Basti pensare agli studi condotti sugli indiani Pima dell'Arizona dove c'è una elevatissima presenza di obesità e diabete tipo 2.

Tra i meccanismi patogenetici di obesità essenziali ricordiamo:

Polimorfismo del gene per il TNF- α , deficit di attività del sistema simpatico adrenergico, recettore Beta3 adrenergico, leptino-resistenza.

Studi condotti da Hotamisligil (11) e successivamente da Norman (13), compiuti su coppie di fratelli Pima, hanno evidenziato un collegamento tra il polimorfismo del gene per la citochina TNF- α , l'indice di massa corporea ed il contenuto di grasso corporeo.

Nello studio di Saad (14) è stato evidenziato un deficit di attività del sistema nervoso simpatico negli indiani Pima rispetto ad un gruppo di controllo di razza caucasica.

E' stato dimostrato anche, che il numero dei recettori Beta3 aumenta progressivamente in seguito alla stimolazione da parte del sistema nervoso simpatico indotta dal pasto o dall'esposizione al freddo. Nello studio di Arner (15) sembra che questo recettore possa essere implicato nello sviluppo di obesità, portando ad una riduzione della termogenesi negli adipociti bruni e ad un rallentamento nella lipolisi degli adipociti bianchi con conseguente accumulo di trigliceridi.

Nel 1995 Zhang et al (8) hanno identificato e clonato anche nell'uomo l'omologo del gene ob del topo ed è stato verificato un elevato grado di omologia di sequenza tra i geni delle due specie. Con gli studi successivi è stato identificato l'omologo umano per il recettore della leptina (OB-R).

In una recente meta-analisi condotta dal gruppo di Young (16) nel 2007, su 29,653 individui vengono riportate consistenti associazioni tra varianti genetiche e sviluppo di obesità. Le varianti riguardano:

Il recettore per la melanocortina 4 (MC4R), prohormone convertase 1/3 (PCK1), brain-derived

neurotrophic factor (BDNF), beta 3 recettore adrenergico (ADRB3) gene.

Inoltre due varianti del gene MC4R: V103I e I251L sembrano implicate nella genesi dell'obesità. Tre grandi meta-analisi hanno confermato che i portatori dell'allele carriers 103I hanno un basso rischio di sviluppare obesità rispetto agli omozigoti V103V (17,18). In un'altra meta-analisi (19) sembra che la variante I251L MC4R abbia un effetto protettivo riducendo di circa il 50% il rischio di obesità.

Il gene PCSK1 è un altro candidato, bambini con la mutazione in PCSK1 riportano una forte obesità infantile (20), inoltre due varianti del gene; N221D e Q665E-S690T, sono associate ad obesità in adulti e bambini (21).

Una rara mutazione poi in BDNF è probabilmente causa di severa obesità ed iperfagia (22).

Infine più di 100 studi sono stati pubblicati per l'associazione tra la variante Arg64Trp di ADRB3 e lo sviluppo di obesità (23). Una recente meta-analisi su 44,833 individui ha trovato una significativa associazione tra la variante Arg64Trp e BMI in persone dell'Asia dell'est (24). ADRB3 è infatti coinvolto nella regolazione della lipolisi e della termogenesi.

Assetto epigenetico

Le difficoltà emerse negli studi prima elencati, e quindi la non possibilità di correlare in modo marcato l'obesità a specifici geni, hanno spinto la ricerca verso gli studi epigenetici. Infatti non essendo i geni sufficienti a spiegare ciò che avviene nel fenotipo, altre forme di variazione come i marcatori epigenetici, devono essere presi in considerazione. Uno dei principali meccanismi responsabili di tale processo è la "metilazione del DNA" capace di attivare o disattivare un determinato gene, sopprimendo o attivando quindi la relativa funzione (26-28) e l'acetilazione degli istoni (29-30). La metilazione del DNA può essere fortemente influenzata dalla dieta. Per metilazione del DNA s'intende una modificazione epigenetica del DNA, che consiste nel legame di un gruppo metile (-CH₃) a una base azotata. Alcuni nutrienti contenenti elementi come folati, metionina, colina, vit. B12, piridossalfofosfato sono donatori (o co-fattori) dei processi biologici

che liberano gruppi metilici. Poiché si tratta di micronutrienti, è evidente che la dieta ha un ruolo importante nell'espressione di alcuni geni, in particolare di quelli collegati alle principali regolazioni metaboliche, come quelle del bilancio energetico e della composizione corporea (25). La metilazione del DNA avviene di solito a livello delle citosine, specialmente se seguite da una guanosina, ed i siti di metilazione tendono a localizzarsi preferibilmente laddove sono presenti i polimorfismi. Il genoma umano è composto da circa tre miliardi di paia di basi e codifica per circa 50.000 geni. La sequenza di DNA è identica tra le varie persone per il 99.9%; è la variazione del rimanente 0.1% che determina le differenze interindividuali. Queste differenze comuni sono i polimorfismi (Single Nucleotide Polymorphism). Poiché ogni individuo possiede 2 copie dello stesso gene, possono verificarsi varie combinazioni di un polimorfismo. Le zone del DNA dove tendono a riunirsi più polimorfismi sono dette aptotipi. I polimorfismi sono utili per tracciare la storia dell'uomo, ma possono essere anche utili per valutare la suscettibilità a importanti malattie come il diabete e malattie cardiovascolari (31). L'imprinting genomico è un termine che descrive l'eredità trasmessa da uno specifico genitore nell'informazione genetica (32). È un meccanismo epigenetico di regolazione trascrizionale attraverso il quale alcune geni vengono espressi o meno, a seconda della loro origine parentale. Determinati geni ottengono l'imprinting materno o paterno durante la gametogenesi ed il risultato di ciò è espresso solo su un allele. Difetti dell'imprinting genomico sono associati allo sviluppo di diverse malattie tra cui anche l'obesità (33). La sindrome di Prader-Willi è un chiaro esempio di come i meccanismi epigenetici giochino un ruolo fondamentale (34). Individui affetti da tale sindrome (autosomica recessiva) sono voraci ed hanno un appetito incontrollabile. C'è un'alterazione a carico del cromosoma 15. È causata dall'assenza di espressione dei geni attivi di origine paterna nella regione cromosomica 15q11-q13 (35). Anche il locus GNAS ha dato importanti risultati per la teoria dell'imprinting genetico. Obesità, insulino resistenza ed ipertrigliceridemia si sviluppano quando è ereditato un disordine materno dell'allele GSalfa del locus GNAS; GSalfa è espressa nei tubuli prossimali renali e nel tessuto adiposo (36). Lindsay e colleghi (37)

hanno scoperto delle regioni sul cromosoma 5 e 6 di origine materna e sul cromosoma 10 di origine paterna, che evidenziano come l'imprinting genetico possa influenzare il rischio di diabete tipo 2 e di obesità negli indiani Pima. Price e colleghi hanno evidenziato tre differenti loci genetici associati all'obesità con influenza parentale: la regione 13q32-10p12 e 12q24 suggerisce un effetto materno sul BMI controllato da meccanismi epigenetici (38). Diverse componenti di alimenti bioattivi possono modulare la metilazione del DNA poiché influenzano la disponibilità di gruppi metilici (-CH₃) e di conseguenza il processo biochimico di metilazione. Queste componenti includono la vitamina B12, B6, la metionina, i folati (39). Sono stati studiati gli effetti sulle donne gravide dell'assedio, durato tre mesi, da parte dei nazisti nell'inverno 1944-1945, sullo stato di salute di adulti nati da tali madri (40). Se la malnutrizione si era determinata nel primo mese di gravidanza, aumentava il rischio di spina bifida, schizofrenia, BMI elevato, eventi coronarici in età adulta. Se nel terzo trimestre, aumentava il rischio d'insulinoresistenza e ipertensione arteriosa. Sugli stessi soggetti è stata riscontrata associazione tra metilazione del DNA e rischio di patologie nell'età adulta (41). In generale l'esposizione in gravidanza alla malnutrizione, incrementava il rischio d'iperlipidemia, e di accidenti cerebro-vascolari mortali (41). Su gli stessi soggetti, il gruppo di Tobi et al. (41) ha poi studiato la metilazione del DNA per alcuni geni ed i ricercatori hanno osservato che la malnutrizione nel primo trimestre di gravidanza riduceva la metilazione del DNA per IGF2 (Insulin-like-growth-factor 2) INSIGF-promoter (The overlapping region of IGF2 and insulin) e la aumentava per GNASAS (Antisense Rna non Protein Coding), MEG3 (A Maternal Imprinting Gene), IL10 (interleuchina 10), LEP (Leptina); viceversa nel terzo trimestre aveva effetti opposti sulla metilazione di GNASAS, che risultava ridotta. In altre parole era possibile osservare un'associazione tra metilazione del DNA e rischio di patologie dell'età adulta (41). Variazioni epigenetiche avvengono comunemente durante la gestazione, lo sviluppo neonatale e durante la pubertà. Sembrano portare "memoria" dell'esperienza della early life, ma possono portare allo sviluppo di malattie nei periodi successivi della vita (42). Studi su modelli animali supportano fortemente

il concetto che l'esperienza durante la vita intrauterina può modulare i fenotipi della progenie indipendentemente dal genotipo. In particolare la nutrizione materna e segnali ormonali possono influenzare i geni fetali alterando la metilazione del DNA in geni promoters e l'acetilazione degli istoni nella struttura della cromatina (43). La programmazione epigenetica della placenta ha come risultato cambiamenti in struttura e funzione che possono aumentare o diminuire il trasporto di nutrienti al feto. Nello studio di Godfrey et al (44) è stata riportata per la prima volta, evidenza che lo stato di metilazione di geni promoters in utero è associato a variazioni tardive del fenotipo. Gli autori hanno misurato lo stato di metilazione di CpGs nei promoters di 78 geni candidati, estratti dal DNA del cordone ombelicale di bambini che hanno poi sviluppato obesità all'età di 9 anni. Lo stato di metilazione della regione promoter RXRA (retinoid X receptor alfa) era correlato allo sviluppo successivo dell'obesità nel bambino. La Auckland birth weight Collaborative (45) and the ALPAC studies (46) hanno identificato gli alleli associati a basso peso alla nascita ed allo sviluppo di obesità. Variazioni genetiche in KCNJ11, BDNF, PFKFB3, PTER e SEC16B sono associate a basso peso alla nascita. FTO, MCR2, TMEM18, GNPDA2, KCTD15, NEGR1, BDNF e ETV5 osservati su 7146 bambini, sono stati studiati come alleli a rischio obesità. Ma in una recente meta-analisi, solo MTCH2 e FTO sono stati associati rispettivamente a basso ed alto peso alla nascita (47). In particolare le varianti del gene FTO nell'obesità potrebbero essere mediate da meccanismi epigenetici (48). Il gene FTO è il gene ritenuto responsabile dell'obesità: in un'importante ricerca pubblicata sulla rivista "Science", questo gene sarebbe in grado di attivare o disattivare la funzione di numerosi geni implicati nelle regolazioni metaboliche del nostro organismo e nella regolazione stessa della sensazione di appetito (49-50). E' stato evidenziato il ruolo del gene FTO, nell'alterazione soprattutto del comportamento alimentare, nell'aumentare l'introito calorico e nella diminuzione della risposta al senso di sazietà. Pazienti con la variante FTO (rs 9939609) hanno una diminuzione del senso di fame e sazietà postprandiale (51). In nutri-genetica, alcuni studi recenti dimostrerebbero che nei genotipi FTO la dieta mediterranea ipocalorica ridurrebbe il drop out dei pa-

zienti a dieta (52) e l'incremento ponderale in periodi di tre anni (53).

Influenze ambientali

Cambiamenti ambientali, determinate procedure come la manipolazione embrionale, durante un periodo limitato come i primi stadi dello sviluppo, influenzano il fenotipo adulto. Alto peso alla nascita è stato osservato anche sull'uomo in caso di interventi sull'embrione. Queste varianti fenotipiche sono associate ad alterata espressione genica e metilazione del DNA (54). Il tessuto adiposo si sviluppa nel terzo trimestre di gravidanza. Nei nati pretermine con basso peso esposti a un recupero rapido ed eccessivo con latte formula si osserva, verosimilmente per meccanismi epigenetici, in età adulta, un rischio metabolico e per l'obesità più marcato dei controlli (55). Oltre all'ipopernutrizione intrauterina, anche l'allattamento gioca un ruolo fondamentale nel favorire o meno lo sviluppo dell'obesità nelle età successive. L'allattamento al seno se prolungato per più di sei mesi risulta essere un fattore predittivo nei confronti dell'obesità. Infatti Lucas et al (56) hanno dimostrato la presenza di una concentrazione maggiore di insulina plasmatica nei bambini allattati artificialmente rispetto ai bambini allattati al seno. Questi alti livelli di insulina stimolano la deposizione di tessuto adiposo e lo sviluppo precoce di adipociti. Il latte materno contiene fattori che possono modulare il fattore di crescita dell'epidermide (EGF) o il fattore di necrosi tumorale (TNF) che entrambi inibiscono la differenziazione degli adipociti in vitro. Su neonati di ratte gravide, tenute a dieta ipoproteica, l'immediato supplemento di folati, subito dopo la nascita ripristinava l'alterata metilazione e preveniva contestualmente, dislipidemia, steatosi epatica e ipertensione (57). Una dieta carente di metili aumenta l'espressione dell'imprinting, ed i geni di espressione paterna codificano "insulin-like growth factor 2" (Igf2) nella prostata di topo (58). Il locus Igf2 risulta particolarmente suscettibile alle modificazioni alimentari soprattutto nella fase di svezzamento e nel topo provoca cambiamenti nella metilazione ed espressione del locus Igf2.

Conclusioni

Allo stato attuale, le modifiche più importanti che si possono apportare all'ereditarietà, in ambito di obesità, sono rappresentate da modifiche epigenetiche ottenute attraverso la dieta. Studi sperimentali, ma anche, se pur preliminari, nell'uomo, sembrano dimostrare che utilizzando proprio la "developmental plasticity" è possibile invertire una condizione di rischio o comunque limitare i danni per l'età adulta da aspecifiche carenze nutrizionali in età perinatale: è fondamentale garantire un adeguato apporto dietetico di "donatori di metili", quindi folati, vit. B12, metionina, colina, piridossalfosfato il che, in altre parole, significa ancora garantire un'alimentazione sana con alimenti di alto valore nutrizionale. In particolare studi, condotti dal Dipartimento di Biochimica della II Facoltà di Medicina e Chirurgia di Napoli, in associazione con l'Istituto di Genetica e di Biofisica del CNR, hanno confermato come un aumento dell'omocisteina in circolo possa modificare l'espressione genica attraverso la metilazione del DNA (58). I risultati ottenuti su pazienti nefropatici (59), dimostrano per la prima volta che un'alterazione metabolica di una malattia acquisita (aumento dell'omocisteina nel sangue degli uremici) è in grado di modificare l'espressione dei geni attraverso la metilazione del DNA. La modifica del DNA, indotta dalla malattia, può essere corretta e i normali valori di omocisteina ripristinati con trattamento con folato, una vitamina idrosolubile. Genomica nutrizionale e farmacologia genetica sono le nuove frontiere della ricerca che si occupano dei rapporti tra geni, alimenti (o farmaci) e malattie.

Bibliografia

- Herrera BM, Keildson S, Lindgren CM. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas* 2011; May 69 (1): 41-9.
- Mutch DM, Wahli W, Williamson G. Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. *FASEB J* 2005 Oct; 19: 1602-16. Review
- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity* (Silver Spring).2006 April; 14(4): 529-644. Review.
- Saunders CL, Chiodini BD, Sham P et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity* (Silver Spring). 2007 Sep;15 (9):2263-75
- Strunkard AJ, Sorensen TI, et al. An Adoption study of human obesity. *N Engl J Med*.1986 Jan 23; 314:193-9
- Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. *J Heard* 1950 Dec;41(12):317-8.
- Truett G, Bahary N et al. Rat obesity gene fatty (fa) maps to chromosome 5:evidence for homology with the mouse gene diabetes (db). *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 Sep 1;88(17):7806-9.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994 Dec 1;372(6505):425-32.
- Maffei M, Halaas J et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight reduced subjects. *Nature Med* 1995 Nov; 1(11):1155-61
- Giacobino JP. Beta 3 adrenoceptor: an update. *Eur J Endocrinol* 1995 Apr;132(4):377-85. Review
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of Tumor Necrosis Factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993 Jan 1;259(5091):87-91.
- Kern PA. Recombinant human tumor necrosis factor does not inhibit lipoprotein lipase in primary cultures of isolated human adipocytes. *J Lipid Res* 1988 Jul; 29(7):909-14
- Norman RA, Bogardus C, Ravussin E. Linkage between obesity and a marker near the tumor necrosis factor- α locus in Pima indians. *J Clin Invest*.1995 Jul;96(1):158-62.
- Saad M, Alger SA, Zurlo F et al. Ethnic differences in sympathetic nervous system-mediated energy expenditure. *Am J Physiol* 1991 Dec;261(6P+1):E789-94.
- Arner P. The Beta 3-adrenergic receptor a cause and cure of obesity? *N Engl Med* 1995 Aug 10; 333(6):10,382-3.
- Young EH, Wareham NJ, Farooqi S, Hinney A, Hebebrand J, Scherag A, O'Rahilly S, Barroso I, Sandhu MS. The V103I polymorphism of the MC4R gene and obesity:population based studies and meta-analysis of 29,563 individuals. *Int J Obes*.2007 Sep;31:1437-41
- Heid IM, Vollmert C, Hinney A, Doring A, Geller F, Lowel H, Wichmann He, Illig T, Hebebrand J, Kronenberg F. The Kora group. Association of the 103I MC4R allele with decreased body mass in 7937 participants of two population based surveys. *J Med Genet*.2005;42(4):e21.
- Geller F, Reichwald K, Dempfle A, Illig T, Vollmert C, Herpetz S, Siffert W, Platzer M, Hess C, Gudermann T, Biermann H, Wichmann HE, Schafer H, Hinney A, Hebebrand J. Melanocortin 4 receptor gene variant i103 is negatively associated with obesity. *Am J Hum Genet*.2004 Mar;74:572-81.
- Stutzmann F, Vatin V, Cauchi S, Morandi A, Jouret B, Landt O, Tounian P, Levy-Marchal C, Buzzetti R, Pinelli L, Balkau B, Horber F, Bougneres P, Froguel P, Meyre D. Non-synonymous polymorphisms in melanocortin-4 receptor protect against obesity: the two facets of a Janus obesity gene. *Hum Mol Genet*.2007 Aug 1;16 (15):1837-44
- Farooqi IS, Volders K, Stanhope R, Heuschkel R, White A, Lank E, Keogh J, O'Rahilly S, Creemers JWM. Hyperphagia and early-onset obesity due to a novel homozygous missense mutation in prohormone convertase 1/3. *J Clin Endocrinol Metab*.2007 Sep;92(9):3369-73.

21. Benzinou M, Creemers JW, Choquet H, Lobbens S, Dina C, Durand E, Guerardel A, Boutin P, Jouret B, Heude B, Balkau B, Tichet J, Marre M, Potczna N, Horber F, Le Stunff C, Kovacs P, Jacobson P, Carlsson LM, Walley AJ, Jorgensen T, Hansen T, Pedersen O, Meyre D, Froguel P. Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat Genet.* 2008 Aug; 40:943-5
22. Kernie SG, Liebl DJ, Parada LF. BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. *EMBO J.* 2000 Mar 15; 19(6):1290-300.
23. Clement K, Vaisse C, Manning BS, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, Silver KD, Shuldiner AR, Froguel P, Strosberg AD. Genetic variation in the Beta3 - adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med.* 1995 Aug 10; 333:352-4.
24. Kurokawa N, Young EH, Oka Y, Satoh H, Wareham NJ, Sandhu MS, Loos RJ. The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. *Int J Obes (Lond)* 2008 Aug; 32:1240-9.
25. Cataldo F, Finelli C, Pasanisi P. La dieta ottimale. *ADI MAGAZINE* 3. 2011: 15.
26. Tang WY, Ho SM. Epigenetics reprogramming and imprinting in origins of disease. *Rev Endocr Metab Disord*, 2007, Jun; 8 (2), 173-82. Review.
27. Esteller M. Epigenetics in evolution and disease. *The Lancet*, 2008, 590-96
28. Zeisel SH. Epigenetic mechanisms for nutrition determinants of later health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2009 May; 89 (5): 1488S-1493S.
29. Bird A. Dna methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002 Jan 1; 16:6-21
30. Misteli T. Beyond the sequence: cellular organization of genome function. *Cell* 2007 Feb 23; 128(4):787-800.
31. Davis CD, Ulthus EO. DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004 Nov; 229(10):988-95
32. Reik W, Walter J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat rev. Genet* 2001 Jan; 2(1):21- 32.
33. Wood AJ, Oakey Rj. Genomic imprinting in mammals: emergent themes and established theories. *PLoS Genet* 2006 Nov 24; 2(11):e147. Review
34. Nicholls RD, Saitoh S, Horsthemke B. Imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Trends Genet* 1998; 14:194-200
35. Nicholls RD, Knepper JL. Genome organization, function, and imprinting in Prader Willi and Angelman syndromes. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet* 2001; 2:153-175
36. Chen M, Gavrilova O, Liu J et al. Alternative Gnas gene products have opposite effects on glucose and lipid metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 May; 102(20):7386-7391
37. Lindsay RS, Kobes S, Knowler WC, Hanson RL. Genome-wide linkage analysis assessing parent-of-origin effects in the inheritance of birth weight. *Hum Genet* 2002 May; 110(5):503-509
38. Dong C, Li WD, Geller F et al. Possible genomic imprinting of three human obesity-related genetic loci. *Am J Hum Genet* 2005 Mar; 76(3):427-437
39. Benzi L, Bertacca A. Dalla genetica della nutrizione alla nutrizione personalizzata. Corso di Laurea in Dietistica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Pisa.
40. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales C. N, Bleker OP. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 1998 Jan 17; 351(9097): 173-7.
41. Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, Slagboom PE, Heijmans BT. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex -specific. *Hum Mol Genet.* 2009, Nov 1; 18 (21): 4046-53.
42. Howie GJ, Sloboda DM, Kamal T, Vickers MH. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *J Physiol.* 2009 Feb; 587 (pt 4):905-915
43. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005 Jun 3; 308 (5727):1466-1469
44. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, et al. Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. *Diabetes.* 2011; 60(5):1528-1534
45. Morgan AR et al. Obesity and diabetes genes are associated with being born small for gestational age: results from the Auckland birth weight Collaborative study. *BMC Med Genet* 2010; 11:125
46. Kilpelainen TO, Den Hoed M, Ong KK et al. Early Growth Genetics Consortium. Obesity-susceptibility loci have a limited influence on birth weight: a meta-analysis of up to 28,219 individuals. *Am j Clin Nutr.* 2011 Apr; 93 (4):815-860.
47. Manco M, Dallapiccola B: Genetics of pediatric obesity. *Pediatrics* 2012 Jul; 130(1):123-33
48. Almen MS, Jacobsson JA, Moschonis G, Benedict C, Chrousos GP, Fredriksson R, Schiöth HB. Genome wide analysis reveals association of a FTO gene variant with epigenetic changes. *Genomics.* 2012 Mar; 99 (3): 132-7.
49. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 2007 May 11; 316 (5826): 889-94.
50. Perusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnangel SJ, et al. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res.* 2005 Mar; 13 (3):381-490.
51. Wardle J, Carnell S, Haworth CM, et al. Obesity associated genetic variation in FTO is associated with diminished satiety. *J. Clin Endocrinol Metab.* 2008 Sept; 93 (9): 3640-3.
52. Grau K, et al. Macronutrient-specific effect of FTO rs9939609 in response to a 10 week randomized hypo-energetic diet among obese Europeans, *Int J Obes(Lond).* 2009 Nov; 33(11): 1227-34.
53. Razquin C. Martinez-Gonzales MA, Bes-Rastrollo M, Fernandez-Crehuet J, Marti A. A 3 year intervention with a Mediterranean diet modified the association between the rs9939609 gene variant in FTO and body weight changes, *Int J. Obes (Lond).* 2010 Feb; 34 (2): 266-72.
54. Yong Le, Sinclair KD, Wilmot I. Large offspring syndrome in

- cattle and sheep. *Rev. Reprod* 1998;3:155-163
55. Ozanne SE., Fernandez-Twinn D., Hales CN. Fetal growth and adult diseases. *Seminars in Perinatol*, 2004 Feb; 28(1): 81-7. Review
56. Lucas A, Sarson DL, Blackburn AM, Adrian TE, Aynsley-Green A, Bloom SR. Breast vs Bottle: endocrine responses are different with formula feeding. *Lancet* 1980 Jun 14;1(8181):1267-9
57. Waterland Ra, Lin JR, Smith Ca, Jirtle RL. Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor2 (Igf2) locus. *Hum. Mol. Genet* 2006 Mar 1;15(85):705-716.
58. De magistris R, Giordano A. Nuove prospettive nella prevenzione e nel trattamento delle malattie cronico-degenerative. Istituto Nazionale Tumori fondazione G. Pascale.
59. Marques CJ, Carvalho F, Sousa M, Barros A. Genomic imprinting in disruptive spermatogenesis. *Lancet*. 2004 May 22; 363(9422): 1700-02.
60. Lillycrop Ka, Burgde GC. Epigenetic changes in early life and future risk of obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2011 Jan;35(1):72-83.

Correspondence:
Dr. Augusto Di Vico
Istituto Paracelso Roma
E-mail: augustodivico@libero.it