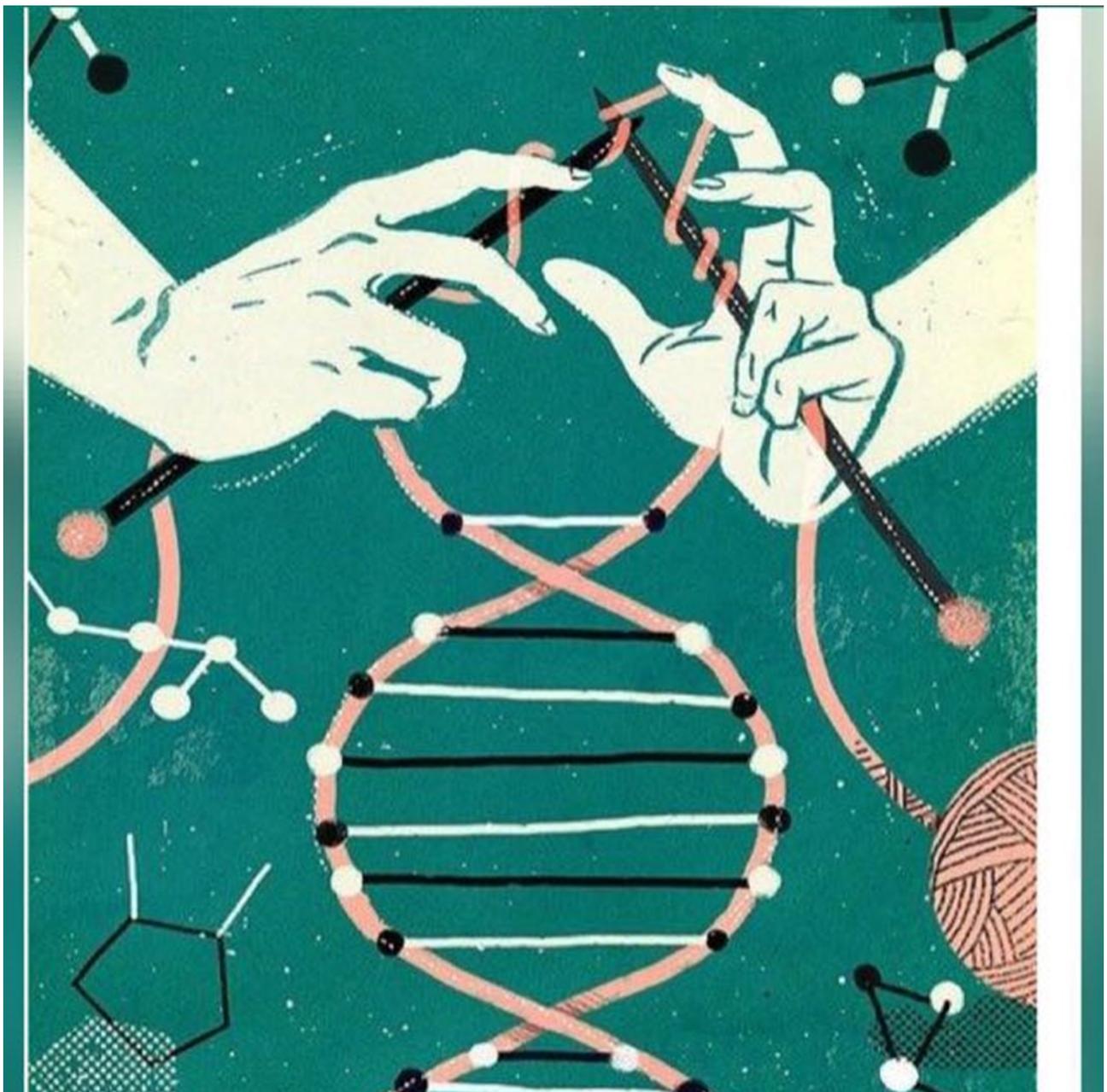


# SIPNEI EARLY LIFE

Rassegna della ricerca scientifica internazionale sulle prime fasi della vita a cura della Commissione Nazionale Sipnei Early Life.

**RASSEGNA N. 35 MARZO 2023**



**Care colleghe e cari colleghi SIPNEI**

**siamo un gruppo di soci che vengono da percorsi differenti, accomunati tuttavia dal desiderio di conoscere e dalla volontà di apprendere e di migliorarci; curiosi per natura, abbiamo nutrito questo progetto perché diventasse uno stimolo per i professionisti SIPNEI della cura integrata, con l'intento di potenziare la prevenzione nell'infanzia. Un contributo a che gli adulti di domani siano via via più sani e resilienti.**

**Grazie al sostegno e allo stimolo del Prof. Francesco Bottaccioli, la rassegna vorrà essere uno strumento di approfondimento e di studio per altri professionisti che condividono l'interesse verso la Psiconeuroendocrinoimmunologia, con particolare riferimento alle prime età della vita.**

**La rassegna, che arriverà al vostro indirizzo email alla fine di ogni mese, sarà composta da tre articoli principali, ciascuno dei quali arricchito da articoli correlati.**

**Contributi a cura di:**

**Dott. Stefania Carbonella, psicologa psicoterapeuta, Torino**

**Dott. Marilena Coniglio, psicologa psicoterapeuta, Cassano d'Adda e Milano**

**Dott. Gloria Curati - osteopata fisioterapista, Parma**

**Dott. Mariapia de Bari - osteopata fisioterapista, Roma e Molfetta (BA)**

**Dott. Roberta Dell'Acqua - psicologa psicoterapeuta, Legnano (MI)**

**Dott. Lisa Gaiarsa - osteopata, Vicenza**

**Dott. Vera Gandini - medico pediatra, Busto Arsizio (VA)**

**Dott. Federica Lavista - medico psicoterapeuta, Torino**

**Dott. Eleonora Lombardi Mistura - medico pediatra, Carvico (BG)**

**Arch. Silvia Moneti - architetto e insegnante, Cesena**

**Dott. Ornella Righi - medico pediatra, Piacenza**

**Dott. Rosario Savino - medico neuropsichiatra infantile, Napoli**

**Dott. Emanuela Stoppele - psicologa psicoterapeuta, Verona**

**Dott. Rossana Terni - psicologa psicoterapeuta, Vicenza e Napoli**

**Dott. Federica Taricco - ostetrica, Savigliano (CN)**

**Dott. Gloria Trapletti - medico pediatra, Cagliari**

**Rassegna a cura di: Dott. Federica Lavista**

I gemelli sono da tempo oggetto grande fascinazione, soprattutto in ambito di indagine genetica ed epigenetica. L'aumento straordinario di parti gemellari, cui si assiste dagli anni Ottanta ad oggi, in ragione del ricorso sempre più frequente alla riproduzione medicalmente assistita e in ragione delle numerose gravidanze tardive cui si dà avvio nelle regioni più ricche del mondo, non può che rappresentare occasione di riflessione e di studio senza precedenti.

Il primo dei lavori proposti delinea un'immagine statisticamente attendibile dell'aumento del tasso globale di incidenza di parti gemellari negli ultimi decenni e delle implicazioni variamente declinate sulla salute dei nascituri e delle madri.

I gemelli monozigoti hanno medesimo genoma e metilomi sempre più diversi, nel corso della vita, per contesto ambientale e per fisiologico processo di invecchiamento. Se ne indaga da tempo l'influenza, rispetto al ruolo dei soli fattori genetici, relativamente allo sviluppo di malattia in epoche successive della vita.

Solo più recentemente sono stati progettati e sviluppati studi di epigenetica con preciso focus su gemelli neonati, in considerazione dell'importanza della diversità ambientale intrauterina, come il sito di insediamento del cordone e la non coincidenza di posizione e dimensione del sacco amniotico, tra il resto. I livelli di metilazione correlano, in effetti, con un diverso peso alla nascita, ma anche con lo sviluppo di patologie tra le più varie, nel corso della vita. Si veda, a titolo di esempio, il focus sulle patologie cardiovascolari, nel secondo degli articoli principali della rassegna.

L'ultima delle proposte di lettura pone, invece, l'attenzione sul legame tra fattori genetici ed epigenetici e sviluppo neurologico, in coppie di gemelli monozigoti e dizigoti, per l'appunto sensibile alle influenze ambientali pre e post nascita.

La valutazione viene condotta a mezzo di neuroimaging e test cognitivi, con uno sguardo alle influenze ambientali modificabili e, nello specifico, alla relazione intima tra microbiota ed esiti in termini di sviluppo neurocognitivo, con l'obiettivo di contribuire a definire il ruolo ormai sempre meglio noto del microbioma e del rapporto gene-ambiente, anche mediante analisi del microbioma da meconio.

**Buona lettura!**

## ARTICOLO 1

*Human Reproduction, Vol.36, No.6, pp. 1666–1673, March 12, 2021*  
*doi:10.1093/humrep/deab029*

### **Twin Peaks: more twinning in humans than ever before**

Christiaan Monden, Gilles Pison, Jeroen Smits

## ABSTRACT

**STUDY QUESTION:** How many twins are born in human populations and how has this changed over recent decades?

**SUMMARY ANSWER:** Since the 1980s, the global twinning rate has increased by a third, from 9.1 to 12.0 twin deliveries per 1000 deliveries, to about 1.6 million twin pairs each year.

**WHAT IS KNOWN ALREADY:** It was already known that in the 1980s natural twinning rates were low in (East) Asia and South America, at an intermediate level in Europe and North America, and high in many African countries. It was also known that in recent decades, twinning rates have been increasing in the wealthier parts of our world as a result of the rise in medically assisted reproduction (MAR) and delayed childbearing.

**STUDY DESIGN, SIZE, DURATION:** We have brought together all information on national twinning rates available from statistical offices, demographic research institutes, individual survey data and the medical literature for the 1980–1985 and the 2010–2015 periods.

**PARTICIPANTS/MATERIALS, SETTING, METHODS:** For 165 countries, covering over 99% of the global population, we were able to collect or estimate twinning rates for the 2010–2015 period. For 112 countries, we were also able to obtain twinning rates for 1980–1985.

**MAIN RESULTS AND THE ROLE OF CHANCE:** Substantial increases in twinning rates were observed in many countries in Europe, North America and Asia. For 74 out of 112 countries the increase was more than 10%. Africa is still the continent with highest twinning rates, but Europe, North America and Oceania are catching up rapidly. Asia and Africa are currently home to 80% of all twin deliveries in the world.

**LIMITATIONS, REASONS FOR CAUTION:** For some countries, data were derived from reports and papers based on hospital registrations which are less representative for the country as a whole than data based on public administrations and national surveys.

**WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS:** The absolute and relative number of twins for the world as a whole is peaking at an unprecedented level. An important reason for this is the tremendous increase in medically assisted reproduction in recent decades. This is highly relevant, as twin deliveries are associated with higher infant and child mortality rates and increased complications for mother and child during pregnancy and during and after delivery.

[...]

## **ABSTRACT TRADOTTO**

**DOMANDA DI STUDIO:** quanti gemelli nascono nella popolazione umana e come è cambiato negli ultimi decenni?

**RISPOSTA SINTETICA:** dagli anni '80, il tasso globale è aumentato di un terzo, da 9,1 a 12,0 parti gemellari per 1000 parti, a circa 1,6 milioni di coppie ogni anno.

**COSA SI SA GIÀ:** era già noto che negli anni '80 i tassi di parti gemellari naturali erano bassi in Asia (orientale) e in Sud America, ad un livello intermedio in Europa e in Nord America e alti in molti Paesi africani. Era anche noto che negli ultimi decenni i tassi sono aumentati nelle parti più ricche del nostro mondo, a causa dell'aumento della riproduzione medicalmente assistita (MAR) e del ritardo delle gravidanze.

**STUDIO DISEGNO, DIMENSIONE, DURATA:** abbiamo raccolto tutte le informazioni sui tassi nazionali disponibili presso gli uffici statistici, gli istituti di ricerca demografica, i dati delle indagini individuali e la letteratura medica per i periodi 1980-1985 e 2010-2015.

**PARTECIPANTI/MATERIALI, AMBIENTAZIONE, METODI:** per 165 Paesi, che coprono oltre il 99% della popolazione mondiale, siamo stati in grado di raccogliere o stimare i tassi per il periodo 2010-2015. Per 112 paesi, siamo stati anche in grado di ottenere tassi per il periodo 1980-1985.

**PRINCIPALI RISULTATI E IL RUOLO DEL CASO:** aumenti sostanziali dei tassi di parti gemellari sono stati osservati in molti Paesi in Europa, Nord America e Asia. Per 74 paesi su 112 l'aumento è stato superiore al 10%. L'Africa è ancora il continente con i più alti tassi, ma l'Europa, il Nord America e l'Oceania stanno recuperando rapidamente terreno. Asia e Africa ospitano attualmente l'80% di tutti i parti gemellari del mondo.

**LIMITAZIONI, MOTIVI DI CAUTELA:** per alcuni Paesi, i dati sono stati ricavati da rapporti e documenti basati su registrazioni ospedaliere che sono meno rappresentativi per il Paese nel suo insieme rispetto ai dati ricavati dalle Pubbliche Amministrazioni e dalle indagini nazionali.

**IMPLICAZIONI PIÙ AMPIE DEI RISULTATI:** il numero assoluto e relativo di gemelli per il mondo nel suo insieme sta raggiungendo un livello senza precedenti. Una ragione importante è l'enorme aumento della riproduzione medicalmente assistita negli ultimi decenni. È molto rilevante, poiché i parti gemellari sono associati a tassi di mortalità infantile più elevati e maggiori complicanze per madre e figlio durante la gravidanza, durante e dopo il parto.

[...]

## **COMMENTO**

I gemelli hanno affascinato gli scienziati e il grande pubblico per secoli. Parte di questo interesse è guidato dalle implicazioni sulla salute delle gravidanze gemellari. I gemelli, infatti, hanno più complicazioni alla nascita, spesso nascono prematuri, sottopeso ed hanno tassi di mortalità infantile e natimortalità più elevati. Inoltre, il rischio di complicanze per la madre, come il diabete gestazionale, la depressione post-partum, la pre-eclampsia e la mortalità materna, è notevolmente aumentato in dette gravidanze.

L'articolo raccoglie tutte le informazioni statistiche disponibili sulla frequenza delle nascite gemellari in tutto il mondo, per documentare la variazione dei tassi di gemellarità tra i Paesi e come questa variazione sia cambiata dagli anni '80.

I risultati mostrano che le nascite multiple hanno recentemente raggiunto un massimo storico, con tassi di oltre 15 parti gemelli ogni 1000 parti in molti Paesi, inclusi Stati Uniti, Canada, Unione Europea, Israele, Corea del Sud, Taiwan e quasi tutti i Paesi africani. Solo le regioni più povere dell'America Latina e dell'Asia meridionale e sud-orientale hanno tassi di gemellarità spesso inferiori a 10 parti multipli ogni 1000 parti.

È stata confrontata una recente mappa dei parti gemellari con una mappa precedente, costruita sulla base dei dati riferibili alla prima parte degli anni '80, quando i parti erano ancora quasi del tutto naturali. Questo confronto ha rivelato un enorme incremento globale di nascite gemellari, che è aumentato di un terzo, da 9,1 a 12,0 parti gemellari per 1000 parti, in soli tre decenni.

Anche la distribuzione dei parti plurimi in tutto il mondo è cambiata notevolmente durante questo periodo. Negli anni '80, erano ancora ampiamente dominati da alti tassi di gemellarità nell'Africa subsahariana e tassi moderati in Nord America ed Europa. Nelle altre aree del globo i numeri erano bassi: circa 4 coppie di gemelli ogni 1000 parti ovunque nel mondo.

È ampiamente dimostrato che l'enorme cambiamento nel tasso di gemellarità globale è in gran parte causato dall'aumento dell'uso del MAR, cui si è dato avvio nelle regioni più ricche del mondo negli anni '70, diffuso nelle economie emergenti in Asia e in America Latina tra il 1980 e il 1990, ed ha raggiunto le sottopopolazioni più prospere dell'Asia meridionale e dell'Africa solo dopo il 2000.

MAR si riferisce a un insieme più ampio di trattamenti diversi da quelli noti come tecnologia di riproduzione assistita (ART): trattamenti in cui sia lo sperma che l'ovocita vengono manipolati al di fuori (cioè *in vitro*) del corpo della donna e gli embrioni vengono trasferiti per avviare una gravidanza. ART include, ma non è limitato a, *in vitro* fecondazione (FIV) e la sua variante, iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi (ICSI). Tuttavia il MAR include anche tecniche più semplici, come la stimolazione ovarica e l'inseminazione artificiale.

Sebbene il ruolo importante del MAR sia indiscusso, anche l'aumento dell'età alla nascita ha contribuito all'aumento dei tassi di parti gemellari nei Paesi ad alto reddito.

Il forte aumento del numero di parti gemellari dovuto alla MAR ha iniziato a destare preoccupazioni negli anni '90 tra le autorità mediche e i responsabili politici, a causa dei problemi di salute pubblica ad essi legati. I gemelli sono un gruppo ad alto rischio, associato a complicanze durante la gravidanza, alla nascita e successivamente, tra cui parti pretermine, basso peso alla nascita, aumento dei nati morti e mortalità infantile e materna. A causa di queste preoccupazioni, molti paesi sviluppati hanno iniziato a modificare le proprie normative MAR e le pratiche cliniche intorno al 2000, in base alla quale sono state attuate riduzioni del numero di embrioni trasferiti e l'attenzione è stata rivolta al parto di nati vivi di successo di figli singoli. È quindi possibile che, in questi Paesi, i tassi di gemellarità osservati per il periodo 2010-2015 siano ai massimi storici e che inizino a diminuire nel prossimo decennio. In Europa, il numero di trasferimenti di un unico embrione in IVF/ICSI era appena superiore al 10% alla fine degli anni '90, ma da allora è aumentato costantemente fino a poco più del 40% nel 2017. Il numero di trasferimenti che coinvolgono due embrioni ha oscillato intorno al 55%, mentre i trasferimenti di tre o più sono diminuiti costantemente (European IVF monitoring Consortium, 2020).

In linea con questa evoluzione, in alcuni dei Paesi più sviluppati, i tassi di gemellarità si sono stabilizzati all'inizio degli anni 2000. Tuttavia, in molti altri Paesi non è stato osservato alcun modello di questo tipo, quindi resta da vedere se si verificherà effettivamente un'inversione di tendenza.

Alcune limitazioni devono essere considerate quando si interpretano i risultati. Un limite riguarda la qualità dei dati. Per la maggior parte dei Paesi sviluppati, i valori sono stati ottenuti dagli uffici statistici o dalle registrazioni mediche nazionali, che sono generalmente di alta qualità. Per i LMIC (low and middle income countries), in molti casi erano disponibili indagini rappresentative sulle famiglie con storie di nascita complete, che sono di qualità ragionevole (che si riflette in una variazione relativamente bassa all'interno del Paese tra le indagini condotte in anni diversi).

Per i tassi 2010-2015 di Cina e Arabia Saudita: mentre i dati cinesi sono di alta qualità e sono rappresentativi a livello nazionale, i dati sauditi provengono da un singolo ospedale e quindi devono essere trattati come una stima con notevole incertezza.

Sfortunatamente, non è stato possibile produrre una panoramica completa della situazione prima del 1980. Le informazioni rappresentative a livello nazionale sui tassi di gemellarità sono sempre più scarse per i periodi precedenti, specialmente per i LMIC. Tuttavia, alcune delle principali differenze geografiche nella panoramica 1980-1885 sono in linea, certamente in ordine di classificazione, con prove basate su studi minori della metà o dell'inizio del XX secolo, come quelli raccolti da Bulmer (1970) nel suo libro "the Biology of twinning in man".

In molti Paesi mancano ancora statistiche affidabili sul MAR. È fondamentale anche tenere presente che un numero considerevole di donne si reca in altri paesi per trattamenti di fertilità. Ciò potrebbe essere particolarmente rilevante per le élite urbane più ricche nelle economie emergenti, per le quali si fa ancora affidamento sui dati dei sondaggi piuttosto che sui dati dei registri anagrafici o dei censimenti. Dati accurati e dettagliati sui tassi di parti multipli sono importanti anche per prevedere la domanda di servizi sanitari date le implicazioni sanitarie per i gemelli e le loro madri. Ciò è particolarmente importante nei Paesi a basso reddito, dove la mortalità tra i gemelli è più alta e l'assistenza alle donne in attesa di gemelli è spesso inadeguata rispetto agli standard moderni. Una migliore registrazione e monitoraggio delle nascite gemellari aiuterebbe a risolvere questi problemi di salute. Più in generale, permetterebbe di comprendere meglio i fattori culturali, politici ed economici che contribuiscono alle differenze nei tassi di gemellarità non solo tra i Paesi ma anche all'interno.

L'articolo che segue presenta lo Human Multiple Births Database che è una risorsa unica, in quanto fornisce e documenta la serie annuale più completa possibile di dati sulle nascite multiple per ciascun paese incluso. Tutti i materiali (dati, metadati, codici informatici, esploratori di dati interattivi e materiale supplementare) sono disponibili gratuitamente su <https://www.twinbirths.org/>. L'HMBD è un work in progress, poiché gli aggiornamenti e altri miglioramenti vengono introdotti progressivamente: le serie per ciascun Paese incluso vengono aggiornate con i dati degli anni più recenti e ulteriori sviluppi nei metadati e altri materiali sono in corso. L'ultimo aggiornamento è stato eseguito il 3/2/2023.

## ARTICOLO CORRELATO

*Demographic Research Vol. 48, Art. 4, Pages 89-106 Published 1 feb 2023 DOI: 10.4054/DemRes.2023.48.4*

### **The Human Multiple Births Database (HMBD): An international database on twin and other multiple births**

Catalina Torres, Arianna Caporali & Gilles Pison.

## Abstract

**BACKGROUND** The frequency of twin births has increased dramatically since the 1970s in nearly all developed countries. This upsurge poses a public health challenge because multiple pregnancies are associated with higher health risks and other disadvantages for both the children and the parents. A better understanding of the variation and trends in twinning and other multiple rates is therefore urgently needed.

**OBJECTIVE** The Human Multiple Births Database (HMBD) provides open access national statistics on multiple births for numerous countries.

**METHODS** HMBD data come from the vital statistics system of each country included. We use annual counts of births by plurality to estimate the twinning and multiple birth rate for each year. All procedures performed on the input data are documented.

**RESULTS** The HMBD provides the annual number of deliveries by multiplicity, the twinning rate, and the multiple rate. As of January 2023, 25 countries are included. For each country, data go back as far into the past as possible and extend until the most recent year with available data. Definitions and other specificities of each country's data (e.g., the treatment of stillbirths in the statistics) are provided in the metadata.

**CONTRIBUTION** The HMBD is a unique resource, providing and documenting the most complete possible annual series of data on multiple births for each country included. All materials (data, metadata, computer codes, interactive data explorers, and supplementary material) are freely available at <https://www.twinbirths.org/>. At the time of writing this paper the HMBD is a work in progress, as updates and other enhancements are introduced progressively: the series for each country included is updated with data for the most recent years, and further developments in the metadata and other materials are underway

## ARTICOLO 2

*Genome Biol* 2021 Jan 5;

### **Equivalent DNA methylation variation between monozygotic co-twins and unrelated individuals reveals universal epigenetic inter-individual dissimilarity**

Benjamin Planterose Jiménez, Fan Liu, Amke Caliebe, Diego Montiel González, Jordana T Bell, Manfred Kayser, Athina Vidaki

## ABSTRACT

*Background:* Although the genomes of monozygotic twins are practically identical, their methylomes may evolve divergently throughout their lifetime as a consequence of factors such as the environment or aging. Particularly for young and healthy monozygotic twins, DNA methylation divergence, if any, may be restricted to stochastic processes occurring post-twinning during embryonic development and early life. However, to what extent such stochastic mechanisms can systematically provide a stable source of inter-individual epigenetic variation remains uncertain until now.

*Results:* We enriched for inter-individual stochastic variation by using an equivalence testing-based statistical approach on whole blood methylation microarray data from healthy adolescent monozygotic twins. As a result, we identified 333 CpGs displaying similarly large methylation variation between monozygotic co-twins and unrelated individuals. Although their methylation variation surpasses measurement error and is stable in a short timescale, susceptibility to aging is apparent in the long term. Additionally, 46% of these CpGs were replicated in adipose tissue. The identified sites are significantly enriched at the clustered protocadherin loci, known for stochastic methylation in developing neurons. We also confirmed an enrichment in monozygotic twin DNA methylation discordance at these loci in whole genome bisulfite sequencing data from blood and adipose tissue.

*Conclusions:* We have isolated a component of stochastic methylation variation, distinct from genetic influence, measurement error, and epigenetic drift. Biomarkers enriched in this component may serve in the future as the basis for universal epigenetic fingerprinting, relevant for instance in the discrimination of monozygotic twin individuals in forensic applications, currently impossible with standard DNA profiling.

## **ABSTRACT TRADOTTO**

*Premessa:* Sebbene i genomi dei gemelli monozigoti siano praticamente identici, i loro metilomi possono evolvere in modo divergente nel corso della vita come conseguenza di fattori quali l'ambiente o l'invecchiamento. Soprattutto per i gemelli monozigoti giovani e sani, l'eventuale divergenza della metilazione del DNA può essere limitata a processi stocastici che si verificano dopo il gemellaggio durante lo sviluppo embrionale e durante i primi anni di vita. Tuttavia, fino a che punto tali meccanismi stocastici possano fornire sistematicamente una fonte stabile di variazione epigenetica interindividuale rimane finora incerto.

*Risultati:* Abbiamo arricchito la variazione stocastica inter-individuale utilizzando un approccio statistico basato su test di equivalenza su dati microarray di metilazione del sangue intero di gemelli monozigoti adolescenti sani. Di conseguenza, abbiamo identificato 333 CpG (I siti CpG o CG sono delle regioni del DNA dove una citosina si trova vicino ad una guanina nella sequenza lineare di basi) che mostrano una variazione di metilazione altrettanto ampia tra gemelli monozigoti e individui non imparentati. Sebbene la loro variazione, in termini di metilazione, superi l'errore di misurazione e sia stabile in tempi brevi, la suscettibilità all'invecchiamento è evidente a lungo termine. Inoltre, il 46% di queste CpG è stato replicato nel tessuto adiposo. I siti identificati sono significativamente arricchiti nei loci di protocaderina, noti per la metilazione stocastica nei neuroni in via di sviluppo. Abbiamo anche confermato un arricchimento nella discordanza di metilazione del DNA dei gemelli monozigoti in questi loci nei dati di sequenziamento dell'intero genoma provenienti dal sangue e dal tessuto adiposo.

*Conclusioni:* Abbiamo isolato una componente della variazione stocastica della metilazione, distinta dall'influenza genetica, dall'errore di misurazione e dalla deriva epigenetica. I biomarcatori arricchiti in questa componente potrebbero servire in futuro come base per un fingerprinting epigenetico universale, rilevante per esempio nella discriminazione di individui gemelli monozigoti in applicazioni forensi, attualmente impossibile con il profiling standard del DNA.

## **COMMENTO**

Sappiamo da tempo che l'ambiente uterino è capace di indurre modificazioni dell'espressione del DNA attraverso vari processi epigenetici tra cui la metilazione, che consente di spegnere o accendere i geni agendo su molti processi biologici, come lo sviluppo, l'invecchiamento e la comparsa di varie malattie croniche quali il diabete e il cancro. I gemelli, per le loro caratteristiche particolari, sono stati sempre oggetto di studio al fine di determinare il ruolo di fattori genetici ed ambientali nell'insorgenza e sviluppo di molteplici patologie. Precedenti studi trasversali avevano dimostrato che i gemelli adulti possono presentare differenze epigenetiche decisamente maggiori rispetto ai gemelli in età infantile, legate ovviamente a stili di vita diversi. Solo recentemente sono stati condotti studi epigenetici su gemelli neonati. I ricercatori hanno analizzato, attraverso l'applicazione della tecnologia dei microarray, il DNA dei gemelli omozigoti, che pur avendo lo stesso Dna, si sviluppano in «ambienti» diversi, in quanto dotati di due cordoni ombelicali e due sacche amniotiche differenti. Inoltre in utero, i due feti sono esposti a fattori condivisi (materni) e a fattori non condivisi, come la qualità dell'apporto di nutrienti e di ossigeno, specifici per ciascun feto (studio PETS: Peri/postnatal Epigenetic Twins Study).

Tra i fattori non condivisi, il sito di inserimento del cordone ombelicale nei gemelli che condividono la placenta e il peso della placenta in tutti i gemelli biamniotici, hanno un'associazione significativa con la metilazione del DNA. I livelli di metilazione sembrano essere correlati al peso alla nascita nelle coppie MZ, fornendo un possibile legame meccanicistico tra il peso alla nascita e le malattie cardiovascolari in età avanzata. Questi risultati hanno confermato che i gemelli possono differire dal punto di vista epigenetico a causa dei diversi ambienti che incontrano prima della nascita e che alcune coppie di gemelli possono allontanarsi epigeneticamente in utero, a causa di fattori ambientali stocastici o non condivisi come la placenta e il cordone ombelicale, che sono diversi per ciascun feto. I gemelli DZ hanno mostrato una differenza maggiore, ma è sorprendente che alcune coppie di gemelli MZ presentino maggiori differenze dal punto di vista epigenetico di alcune coppie DZ e persino di alcuni individui non imparentati. La componente più importante della metilazione del DNA è l'ambiente intrauterino non condiviso: ne risulta che l'ambiente intrauterino può favorire la discordanza quanto quello postnatale.

## ARTICOLI CORRELATI

### 1.

*Transl Psychiatry 2021 Aug 2;*

#### **Genome-wide DNA methylation and gene expression analyses in monozygotic twins identify potential biomarkers of depression**

Weijing Wang, Weilong Li, Yili Wu, Xiaocao Tian, Haiping Duan, Shuxia Li, Qihua Tan, Dongfeng Zhang

#### **Abstract**

Depression is currently the leading cause of disability around the world. We conducted an epigenome-wide association study (EWAS) in a sample of 58 depression score-discordant monozygotic twin pairs, aiming to detect specific epigenetic variants potentially related to depression and further integrate with gene expression profile data. Association between the methylation level of each CpG site and depression score was tested by applying a linear mixed effect model. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was performed for gene expression data. The association of DNA methylation levels of 66 CpG sites with depression score reached the level of  $P < 1 \times 10^{-4}$ . These top CpG sites were located at 34 genes, especially PTPRN2, HES5, GATA2, PRDM7, and KCNIP1. Many ontology enrichments were highlighted, including Notch signaling pathway, Huntington disease, p53 pathway by glucose deprivation, hedgehog signaling pathway, DNA binding, and nucleic acid metabolic process. We detected 19 differentially methylated regions (DMRs), some of which were located at GRIK2, DGKA, and NIPA2. While integrating with gene expression data, HELZ2, PTPRN2, GATA2, and ZNF624 were differentially expressed. In WGCNA, one specific module was positively correlated with depression score ( $r = 0.62$ ,  $P = 0.002$ ). Some common genes (including BMP2, PRDM7, KCNIP1, and GRIK2) and enrichment terms (including complement and coagulation cascades pathway, DNA binding, neuron fate specification, glial cell differentiation, and thyroid gland development) were both identified in methylation analysis and WGCNA. Our study identifies specific epigenetic variations which are significantly involved in regions, functional genes, biological function, and pathways that mediate depression disorder.

## 2.

*Cell Dev Biol* 2021 May 12;

### **DNA Methylation Variation Is Identified in Monozygotic Twins Discordant for Non-syndromic Cleft Lip and Palate**

Juan I Young, Susan Slifer, Jacqueline T Hecht, Susan H Blanton

#### **Abstract**

Non-syndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCLP) is the most common craniofacial birth defect. The etiology of NSCLP is complex with multiple genes and environmental factors playing causal roles. Although studies have identified numerous genetic markers associated with NSCLP, the role of epigenetic variation remains relatively unexplored. Because of their identical DNA sequences, monozygotic (MZ) twins discordant for NSCLP are an ideal model for examining the potential contribution of DNA methylation to non-syndromic orofacial clefting. In this study, we compared the patterns of whole genome DNA methylation in six MZ twin pairs discordant for NSCLP. Differentially methylated positions (DMPs) and regions (DMRs) were identified in NSCLP candidate genes, including differential methylation in *MAFB* and *ZEB2* in two independent MZ twin pairs. In addition to DNA methylation differences in NSCLP candidate genes, we found common differential methylation in genes belonging to the Hippo signaling pathway, implicating this mechanosensory pathway in the etiology of NSCLP. The results of this novel approach using MZ twins discordant for NSCLP suggests that differential methylation is one mechanism contributing to NSCLP, meriting future studies on the role of DNA methylation in familial and sporadic NSCLP.

## 3.

*Il Dev Biol* 2021 Nov 24;

### **DNA Methylation Signature in Monozygotic Twins Discordant for Psoriatic Disease**

Matteo Vecellio, Elvezia Maria Paraboschi, Angela Ceribelli, Natasa Isailovic, Francesca Motta, Giulia Cardamone, Michela Robusto, Rosanna Asselta, Sonia Brescianini, Francesco Sacrini, Antonio Costanzo, Maria De Santis, Maria Antonietta Stazi, Stefano Duga, Carlo Selmi

#### **Abstract**

*Background:* Psoriatic disease is a multifactorial inflammatory condition spanning from skin and nail psoriasis (Pso) to spine and joint involvement characterizing psoriatic arthritis (PsA). Monozygotic twins provide a model to investigate genetic, early life environmental exposure and stochastic influences to complex diseases, mainly mediated by epigenetics.

*Methods:* We performed a genome-wide DNA methylation study on whole blood of monozygotic twins from 7 pairs discordant for Pso/PsA using the Infinium Methylation EPIC array (Illumina). MeDiP-qPCR was used to confirm specific signals.

Data were replicated in an independent cohort of seven patients with Pso/PsA and 3 healthy controls. Transcriptomic profiling was performed by RNAsequence on the same 7 monozygotic twin pairs.

*Results:* We identified 2,564 differentially methylated positions between psoriatic disease and controls, corresponding to 1,703 genes, 59% within gene bodies. There were 19 regions with at least two DMPs within 1 kb of distance and significant within-pair  $\Delta\beta$ -values ( $p < 0.005$ ), among them SNX25, BRG1 and SMAD3 genes, all involved in TGF- $\beta$  signaling pathway, were identified. Co-expression analyses on transcriptome data identified IL-6/JAK/STAT3 and TNF- $\alpha$  pathways as important signaling axes involved in the disease, and they also suggested an altered glucose metabolism in patients immune cells, characteristic of pro-inflammatory lymphocytes.

*Conclusion:* The study suggests the presence of an epigenetic signature in affected individuals, pointing to genes involved in immunological and inflammatory responses. This result is also supported by transcriptome data, that altogether suggest a higher activation state of the immune system, that could promote the disease status.

#### 4.

*Nat Genet 2021 Jan;*

#### **Differences between germline genomes of monozygotic twins**

Hakon Jonsson, Erna Magnusdottir, Hannes P Eggertsson, Olafur A Stefansson, Gudny A Arnadottir, Ogmundur Eiriksson et al.

#### **Abstract**

Despite the important role that monozygotic twins have played in genetics research, little is known about their genomic differences. Here we show that monozygotic twins differ on average by 5.2 early developmental mutations and that approximately 15% of monozygotic twins have a substantial number of these early developmental mutations specific to one of them. Using the parents and offspring of twins, we identified pre-twinning mutations. We observed instances where a twin was formed from a single cell lineage in the pre-twinning cell mass and instances where a twin was formed from several cell lineages. CpG>TpG mutations increased in frequency with embryonic development, coinciding with an increase in DNA methylation. Our results indicate that allocations of cells during development shapes genomic differences between monozygotic twins.

#### 5.

*Genomics2023 Jan 20;*

#### **Genome-wide DNA methylation analysis of discordant monozygotic twins reveals consistent sites of differential methylation associated with congenital heart diseases**

X Yuan, J Huang, L Wen, B Novakovic, M D Kilby, C Tong, H Qi, R Saffery, P N Baker

## Abstract

*Background:* Despite being essentially genetically identical, monozygotic (MZ) twins can be discordant for congenital heart disease (CHD), thus highlighting the importance of in utero environmental factors for CHD pathogenesis. This study aimed to identify the epigenetic variations between discordant MZ twin pairs that are associated with CHD at birth.

*Methods:* Cord blood of CHD-discordant MZ twins from the Chongqing Longitudinal Twin Study Cohort was subjected to whole-genome bisulfite sequencing, then validated by MeDIP-qPCR and qRT-PCR.

*Results:* 379 DMRs mapped to 175 differentially methylated genes (DMGs) were associated with CHD. Functional enrichment analysis identified these DMGs are involved in histone methylation, actin cytoskeleton organization, the regulation of cell differentiation, and adrenergic signaling in cardiomyocytes. Of note, SPESP1 and NOX5 were hypermethylated in CHD, and associated with lower gene expression levels.

*Conclusions:* Specific DNA methy (DNAm) variations in cord blood were associated with CHD, thus illustrating new biomarkers and potential interventional targets for CHD.

## ARTICOLO 3

*Twin Research and Human Genetics* (2019), 22, 446–453 doi:10.1017/thg.2019.120

### **Epigenetic Influences on Neurodevelopment at 11 Years of Age: Protocol for the Longitudinal Peri/Postnatal Epigenetic Twins Study at 11 Years of Age (PETS@11)**

Pamela Leong, Yuk Jing Loke, Richard Saffery, Tim Silk, Alice Burnett, Elisha Josev, Katrina Scurrah, Christiane Theda, Anna Czajko, Emmanuel PK Pua, Marc L Seal and Jeffrey M Craig

## ABSTRACT

Neurodevelopment is sensitive to genetic and pre/postnatal environmental influences. These effects are likely mediated by epigenetic factors, yet current knowledge is limited. Longitudinal twin studies can delineate the link between genetic and environmental factors, epigenetic state at birth and neurodevelopment later in childhood. Building upon our study of the Peri/postnatal Epigenetic Twin Study (PETS) from gestation to 6 years of age, here we describe the PETS 11-year follow-up in which we will use neuroimaging and cognitive testing to examine the relationship between early-life environment, epigenetics and neurocognitive outcomes in mid-childhood. Using a within-pair twin model, the primary aims are to (1) identify early-life epigenetic correlates of neurocognitive outcomes; (2) determine the developmental stability of epigenetic effects and (3) identify modifiable environmental risk factors. Secondary aims are to identify factors influencing gut microbiota between 6 and 11 years of age to investigate links between gut microbiota and neurodevelopmental outcomes in mid-childhood. Approximately 210 twin pairs will undergo an assessment at 11 years of age.

This includes a direct child cognitive assessment, multimodal magnetic resonance imaging, biological sampling, anthropometric measurements and a range of questionnaires on health and development, behavior, dietary habits and sleeping patterns.

Data from complementary data sources, including the National Assessment Program — Literacy and Numeracy and the Australian Early Development Census, will also be sought. Following on from our previous focus on relationships between growth, cardiovascular health and oral health, this next phase of PETS will significantly advance our understanding of the environmental interactions that shape the developing brain.

## ABSTRACT TRADOTTO

Il neurosviluppo è sensibile alle influenze ambientali genetiche e pre/postnatali. Questi effetti sono probabilmente mediati da fattori epigenetici, ma le conoscenze attuali sono limitate. Gli studi longitudinali sui gemelli possono delineare il legame tra fattori genetici e ambientali, stato epigenetico alla nascita e sviluppo neurologico più tardi durante l'infanzia. Sulla base del nostro studio del Peri/postnatale Epigenetic Twin Study (PETS), dalla gestazione ai 6 anni di età, qui descriviamo un follow-up di 11 anni, in cui utilizzeremo il neuroimaging e i test cognitivi per esaminare la relazione tra i primi ambiente di vita, epigenetica ed esiti neurocognitivi nella prima infanzia. Utilizzando un gemello modello all'interno della coppia, gli obiettivi primari sono (1) identificare i correlati epigenetici della prima infanzia degli esiti neurocognitivi; (2) determinare la stabilità dello sviluppo degli effetti epigenetici e (3) identificare i fattori di rischio ambientale modificabili. Gli obiettivi secondari sono identificare i fattori che influenzano il microbiota intestinale tra i 6 e gli 11 anni di età per studiare i collegamenti tra il microbiota intestinale e gli esiti dello sviluppo neurologico nella metà dell'infanzia. Circa 210 coppie di gemelli saranno sottoposte a valutazione all'età di 11 anni. Ciò include una valutazione cognitiva diretta del bambino, una risonanza magnetica multimodale, il campionamento biologico, le misurazioni antropometriche e una serie di questionari su salute e sviluppo, comportamento, abitudini alimentari e schemi del sonno. Saranno inoltre ricercati dati provenienti da fonti di dati complementari, tra cui il National Assessment Program — Literacy and Numeracy e l'Australian Early Development Census. Facendo seguito alla nostra precedente attenzione sulle relazioni tra crescita, salute cardiovascolare e salute orale, questa fase successiva del PETS farà progredire in modo significativo la nostra comprensione delle interazioni ambientali che modellano il cervello in via di sviluppo.

## COMMENTO

La ricerca sui gemelli ha portato ad una maggiore comprensione dell'influenza dell'ambiente sull'attività genica *attraverso* l'epigenetica nei primi anni di vita. È stato scoperto che i gemelli geneticamente identici possono differire nel loro segno epigenetico di metilazione del DNA alla nascita ed è stato chiarito il modo in cui le esperienze nel grembo materno possano influenzare gli esiti di salute in età avanzata.

Studi emergenti hanno documentato che i batteri e i metaboliti intestinali svolgono ruoli non trascurabili nell'interazione metabolica intestino-sistemica, che può influenzare lo sviluppo immunitario e metabolico nelle prime fasi della vita e alterare lo sviluppo cognitivo e il comportamento della prole attraverso l'asse microbiota-intestino-cervello. I gemelli, con la loro elevata somiglianza genetica e ambientale, sono un modello eccellente per dirimere la questione dell'effetto dei fattori genetici e ambientali sulla formazione del microbiota intestinale.

Gli studi sulla restrizione della crescita fetale (FGR), associata a mortalità perinatale e neonatale avversa e a peggiori esiti neurocognitivi, hanno rivelato una colonizzazione del microbiota intestinale significativamente sbilanciata e dei profili metabolici disturbati mediati da FGR.

Sia l'ambiente intrauterino che la genetica plasmano le comunità microbiche neonatali e un ambiente intrauterino avverso riduce la colonizzazione dei taxa ereditabili. Inoltre, la disbiosi e le alterazioni metaboliche fecali, nei neonati gemelli con FGR selettivo, sono state caratterizzate da una ridotta abbondanza di *Enterococcus* e livelli di metionina e cisteina sottoregolati. La diminuzione di *Enterococcus* e *Acinetobacter* e i livelli associati di metionina e cisteina sottoregolati nei neonati con FGR selettivo possono innescare stress ossidativo e livelli più bassi del metabolismo 1-C (un carbonio), che potrebbe essere correlato alla patogenesi del FGR selettivo. I fattori ambientali avversi intrauterini correlati al FGR selettivo hanno un effetto a lungo termine sullo sviluppo neurocomportamentale dei neonati. Lo spostamento microbico longitudinale indotto da FGR e le menomazioni neurocomportamentali correlate ai disturbi del profilo metabolico possono fornire una strategia di monitoraggio e intervento non invasiva per migliorare le prognosi avverse.

I gemelli, con la loro elevata somiglianza genetica e ambientale, sono adatti per sondare il ruolo del microbioma intestinale e chiarire gli effetti gene-ambientali su fenotipi complessi. Ogni intra-coppia di gemelli monozigoti (MZ) e dizigoti (DZ) condividono lo stesso ambiente durante la gravidanza, ma la loro somiglianza genetica è diversa: 100% nei gemelli di somiglianza intra-coppia MZ, 50% nei gemelli DZ. Se la genetica dell'ospite può plausibilmente influenzare un particolare fenotipo microbiologico, ci sono più fenotipi simili all'interno di MZ rispetto ai gemelli DZ.

La diminuzione della concordanza del microbioma intestinale tra gemelli MZ e DZ è influenzata da molti fattori, come la condivisione della famiglia, la regione geografica, la dieta individuale, le malattie, i trattamenti delle malattie. Per tale motivo, uno studio recente ha analizzato il meconio che fornisce le informazioni specifiche dell'individuo sulla composizione iniziale del microbioma in quanto materiale più adatto per esplorare l'effetto della genetica sul microbioma. Attraverso il sequenziamento del gene rRNA 16S sulle prime feci della vita di neonati gemelli MZ e DZ questo studio ha rivelato le caratteristiche del microbioma di meconio nei gemelli neonatali, fornendo una base di conoscenze per il contributo genetico alle comunità microbiche ottimali nei primi anni di vita. Tale ricerca ha riportato le inter-caratteristiche e gli intra-tratti del microbioma del meconio in diverse gravidanze gemellari coriali valutate dalla diversità microbica, dall'abbondanza di taxa, dai singoli componenti microbici e dalle interazioni batteriche. Nonostante nessuna differenza nella diversità alfa, la composizione tassonomica e la corrispondente proporzione del microbioma batterico risultano diverse tra i gruppi DZ e MZ. I co-gemelli nei gemelli MZ mostrano più somiglianza nel loro microbioma rispetto ai gemelli DZ, minore diversità beta e tipologia di rete più semplice nelle coppie gemelle MZ.

Infine, gli studi sui gemelli rappresentano un potente approccio per comprendere i contributi relativi della variazione genetica e degli ambienti condivisi e non condivisi a qualsiasi fenotipo, compresi gli esiti dello sviluppo neurologico nei bambini. In tale ottica, lo studio PETS si è posto l'obiettivo di analizzare i correlati epigenetici della prima infanzia degli esiti neurocognitivi, la stabilità dello sviluppo degli effetti epigenetici, l'identificazione dei fattori di rischio ambientale modificabili e i fattori che influenzano il microbiota intestinale.

## ARTICOLI CORRELATI

### 1.

Yang J, et al. *Gut* 2022;71:2451–2462. doi:10.1136/gutjnl-2021-326482

**Original research Unfavourable intrauterine environment contributes to abnormal gut microbiome and metabolome in twins**

Jing Yang, Lingling Hou, Jinfeng Wang, Liwen Xiao, Jinyang Zhang, Nanlin Yin, Su Yao, Kun Cheng, Wen Zhang, Zhonghua Shi, Jing Wang, Hai Jiang, Nana Huang, Yanxia You, Mingmei Lin, Ruiyan Shang, Yuan Wei, Yangyu Zhao, Fangqing Zhao

## Abstract

*Objective.* Fetal growth restriction (FGR) is a devastating pregnancy complication that increases the risk of perinatal mortality and morbidity. This study aims to determine the combined and relative effects of genetic and intrauterine environments on neonatal microbial communities and to explore selective FGR-induced gut microbiota disruption, metabolic profile disturbances and possible outcomes.

*Design.* We profiled and compared the gut microbial colonisation of 150 pairs of twin neonates who were classified into four groups based on their chorionicity and discordance of fetal birth weight. Gut microbiota dysbiosis and faecal metabolic alterations were determined by 16S ribosomal RNA and metagenomic sequencing and metabolomics, and the long-term effects were explored by surveys of physical and neurocognitive development conducted after 2~3 years of follow-up.

*Results.* Adverse intrauterine environmental factors related to selective FGR dominate genetics in their effects of elevating bacterial diversity and altering the composition of early-life gut microbiota, and this effect is positively related to the severity of selective FGR in twins. The influence of genetic factors on gut microbes diminishes in the context of selective FGR. Gut microbiota dysbiosis in twin neonates with selective FGR and faecal metabolic alterations features decreased abundances of *Enterococcus* and *Acinetobacter* and downregulated methionine and cysteine levels. Correlation analysis indicates that the faecal cysteine level in early life is positively correlated with the physical and neurocognitive development of infants.

*Conclusion.* Dysbiotic microbiota profiles and pronounced metabolic alterations are associated with selective FGR affected by adverse intrauterine environments, emphasising the possible effects of dysbiosis on long-term neurobehavioural development.

## 2.

Yang J. *Et al* (2020) *Front. Microbiol.* 11:1139. doi: 10.3389/fmicb.2020.01139

### **Comparison of Meconium Microbiome in Dizygotic and Monozygotic Twins Born by Caesarean Section (CS)**

Jing Yang, Su Yao, Kun Cheng, Lili Xu, Lingling Hou, Yuan Wei, Huijun Feng, Xuejian Yu, Xin Zhang, Xiaomei Tong, Zailing Li and Yangyu Zhao

## Abstract

The early-life microbiota triggers life-long effects on physiological functions and health disorders. Previous studies in adult twins or animal models have revealed associations between host genetics and the harmonious microbiota. However, such associations may be obscured by the fact that each intra-pair of twins will continually encounter various environmental factors as they grow up.

Here, we collected the meconium samples from nineteen dizygotic pairs (DZ,  $n = 38$ ) and nine monozygotic pairs (MZ,  $n = 18$ ) with cesarean delivery, and 16S rRNA gene sequencing was performed to profile the microbiome at birth. Diversity analysis showed that alpha diversity was not significantly different between two groups, whereas beta diversity of MZ twins was significantly lower than that of either DZ twins or unrelated individuals (i.e., randomly selected individual pairs of non-twinship) ( $p < 0.05$ ). Two groups had very similar microbial classifications but different relative abundances of certain taxa including more Firmicutes ( $p = 0.05$ , Wilcoxon test) at the phylum level and lower abundances of five genera ( $p < 0.05$ ) in DZ group compared to MZ group, including *Rheinheimera*, *Proteus*, *SMB53*, *Sphingobium*, and *Megamonas*. Co-occurrence analysis in each group showed slightly more complicated microbial interactions in DZ than MZ twins, although 22 shared bacterial genera co-existed in two groups, with both *Rheinheimera* and *Megamonas* having different centralities in their respective co-occurrence networks. Mean intra-class correlation coefficient (ICC) were also significantly higher for MZ (0.312) compared to DZ twins (0.138) ( $p < 0.05$ ). The predicted microbial gene functions related to carbohydrate were higher in DZ group, whereas folding, sorting, degradation, cell motility pathways and energy metabolism were markedly over-represented in the microbiota of MZ group. In summary, our study uncovered that microbial diversity and components of the meconium microbiome between DZ and MZ twins were partially consistent with that in singleton neonates by cesarean delivery, but several distinctions related to the heritability supported genetic contributions to intestinal microbiome in early life.

### 3.

Yin et al. (2022), *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 2022:15 359–368

#### **The Association Between Fecal Short-Chain Fatty Acids, Gut Microbiota, and Visceral Fat in Monozygotic Twin Pairs**

Xing-Qi Yin, Ya-Xin An, Cai-Guo Yu, Jing Ke, Dong Zhao, Ke Yu Center for Endocrine Metabolism and Immune Diseases, Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing, People's Republic of China

#### **Abstract**

*Purpose:* To examine the association of short-chain fatty acids (SCFAs), gut microbiota and obesity in individual twins and to control for genetic and shared environmental effects by studying monozygotic intrapair differences.

*Patients and Methods:* The study recruited 20 pairs of monozygotic twins. Body composition measurements were performed by using the multi-frequency bioelectrical impedance technique. SCFAs were extracted from feces and quantified by gas chromatography-mass spectrometer. Gut microbiota was evaluated by 16S rRNA gene sequencing.

*Results:* Fecal SCFAs were negatively correlated with adiposity parameters including body mass index, visceral adipose tissue and waist circumference (all  $P < 0.05$ ). Metastat analysis showed that the top 5 relatively abundant bacterial taxa of viscerally obese and non-obese groups were *Bacteroides*, *Collinsella*, *Eubacterium rectale* group, *Lachnoclostridium*, and *Tyzzereella*. Participants with visceral obesity had lower abundance of *Bacteroides* and *Collinsella* compared to non-obese patients ( $P < 0.05$ ). Among them, the abundance of *Collinsella* was positively correlated with acetic acid concentrations ( $r = 0.63$ ,  $P = 0.011$ ). There were no significant intrapair differences in each SCFA concentrations between the twins in our study ( $P > 0.05$ ).

*Conclusion:* Low fecal concentrations of SCFAs were associated with visceral obesity, and the gut microbiota might be involved in the underlying mechanism.

#### 4.

Mei H. et al (2022) *Front. Microbiol.* 13:891679. doi: 10.3389/fmicb.2022.891679

### **Development of the gut microbiota in healthy twins during the first 2 years of life and associations with body mass index z-score: Results from the Wuhan twin birth cohort study**

Hong Mei, Shaoping Yang, An'na Peng, Ruizhen Li, Feiyan Xiang, Hao Zheng, Yafei Tan, Ya Zhang, Ai'fen Zhou, Jianduan Zhang and Han Xiao<sup>1</sup>

#### **Abstract**

The gut microbiota undergoes rapid and vital changes to microbial community structure and the microbial-immune crosstalk during the first 3 years of life, which is thought to be involved in the pathobiology of laterlife disease. Compared to single-born children, little is known about the gut microbiota of twins in early childhood. Based on the Wuhan Twin Birth Cohort study, 344 stool samples from 204 twin families were analyzed to investigate the difference in gut microbiota composition at 6, 12, and 24 months of age. Furthermore, this study evaluated the association between gut microbiota development curves and body mass index z-score (BMI\_Z) curves at 6, 12, and 24 months of age. The predominant microbiota phyla identified in twins were Proteobacteria, Actinobacteriota, Firmicutes, Bacteroidota, and Verrucomicrobiota. The richness and diversity of gut microbiota increased from 6 to 24 months old (alpha diversity with  $p < 0.05$ ). Beta diversity revealed 61 gut microbiota genera that were significantly different in relative abundance among the three age groups. Among the 61 gut microbiota genera, 30 distinct trajectory curves (DTCs) were generated by group-based trajectory models after log<sub>2</sub> transformation of their relative abundance. Subsequently, Spearman correlation analysis revealed that only five gut microbiota DTC were correlated with the BMI\_Z DTC. Therefore, we further examined the association between the five gut microbiota genera DTC and BMI\_Z DTC using generalized estimation equation models. The results revealed a significant association between the DTC groups of Parabacteroides Frontiers in Microbiology 01 frontiersin.org fmicb-13-891679 August 13, 2022 Time: 16:46 # 2 Mei et al. 10.3389/fmicb.2022.891679 and that of BMI\_Z (coefficient = 0.75,  $p = 0.04$ ). The results of this study validated the hypothesis that the richness and diversity of gut microbiota developed with age in twins. Moreover, participants with a higher DTC of log<sub>2</sub>-transformed Parabacteroides had a higher BMI\_Z DTC during the first 2 years of life. Further studies are needed to confirm the association between Parabacteroides and BMI\_Z in other populations.