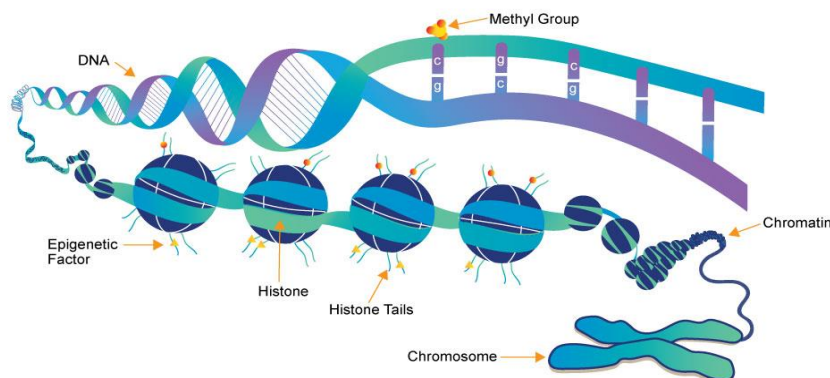


НАУЧНА ИНФОРМАЦИЯ

ЕПИГЕНЕТИКА И НЕЙНОТО МЯСТО В ЖИВОТНОВЪДНИЯ СЕКТОР

Епигенетиката е въведена като термин за първи път от Конрад Хал Уодингтън (1905–1975), като корена на думата идва от аристотеловия термин „епигенеза“. Представката „епи-“ произлиза от гръцката ἐπί-, която означава: над, извън, около. Терминът епигенетика включва всяка модификация в експресията на гени, дължаща се на различни фактори и се различава от обикновена мутация в ДНК последователността. Факторите на епигенетика включват: ДНК метилиране, пост-транслационна модификация на хистони, но също така са свързани с регулиране на генната експресия чрез некодиращи РНК, дестабилизиращи геномни участъци или всяка друга намеса, която може да предизвика модификация на фенотипа. Има малко доказателства за съществуването на трансгенерационно епигенетично унаследяване при бозайници, което обикновено включва и факторите на околната среда, действащи едновременно върху индивида, развиващия се плод и зародишните клетъчни линии. Тези фактори, включени в епигенетиката влияят и на клетъчната енергия и състоянието на клетките.



Фиг. 1: Схематично представени епигенетични фактори

Епигенетична информация е информацията в генома, която се унаследява от клетките, но не е включена в нуклеотидната последователност на ДНК. Епигенетичното унаследяване (известно още като не генетично унаследяване или трансгенерационни епигенетични ефекти) се отнася до всяка модификация на фенотипа на поколенията, която се дължи на предаването на епигенетични последователности/информация, различни от ДНК информацията от родителската двойка или предците (*Bonduriansky and Day, 2009*).

Усилията за разбиране на епигенетиката при животните са съсредоточени най-вече върху молекулярните епигенетични фактори, които регулират експресията на определени гени или геномни райони, понякога в отговор на външни фактори на околната среда както и начин на живот и поведение или климатични промени. До момента има малко информация и още по-малко научна литература относно трансгенерационното епигенетично унаследяване, а възможните стратегии за използване на епигенетиката в животинските популации все още не са описани. Оскъдното количество епигенетични данни за целия геном и високата цена на скрининга на епигенотипа на индивидите са ограничаващи фактори за разработване на изследвания в това направление.

Съществуват противоречия относно възможността за унаследяване на епигенетичната информация. Трябва да се поясни, че обикновено се посочват два вида епигенетично унаследяване: i) епигенетични белези, които могат да бъдат унаследени в соматичните клетъчни линии, тъй като тези белези се съхраняват по време на митозата (*Jablonka Raz, 2009*) и ii) трансгенерационното епигенетично унаследяване в зародишната линия клетки, която контролира модели на генна експресия, предавани от едно поколение на друго (*Daxinger and Whitelaw, 2012*).

Последните проучвания съобщават, че епигенетичното унаследяване играе решаваща роля във фенотипните вариации по време на индивидуалното развитие и това на поколенията след тях (*Nilsson et al., 2018*).

Има хипотеза, че след като епигенетичните белези могат да се предават на поколенията чрез мейоза и митоза, това би важало и при бозайниците. Но за тази хипотеза има доста възникнали съмнения, основно засягащи обширното епигенетично препрограмиране, което настъпва два пъти при бозайниците – веднъж по време на образуването на гаметите и втори път след тяхното сливане и образуване на ембрион, който ще бъде имплантиран. Тези събития водят до „изтриване или нулиране“ на епигенетичната информация, която е придобита от родителите, така че новото поколение да започне „на чисто“ (*John R.M. and Rougeulle C., 2018*).

Епигенетичните изследвания разглеждат модификации и модели на унаследяване, които не включват промени в последователността на ДНК, но влияят върху активността на генната експресия. Има четири основни фактора, чрез които епигенетиката може да променя генната експресия. Това са: **1) ДНК метилиране (ДНКм), 2) модификации на хистони, 3) ремоделиране на хроматинова структура и 4) регулиране на некодираща РНК (фиг. 1).**

1) ДНК метилиране (ДНКм)

До този момент ДНК метилирането е най-стабилната и позната епигенетична модификация при повечето геноми на бозайници. ДНК метилирането се проявява основно в петия въглерод на цитозиновите остатъци (добавяне на метилова или хидроксиметилова група, обозначена съответно като 5mC или 5hmC) в ДНК последователността и най-вече при цитозинфосфат-гуанозин (CpG) динуклеотидите и в по-малка степен при цитозин-фосфат-аденозин (CPA), цитозин-фосфат-тимин (CPT) и

цитозин-фосфат-цитозиновите (СрС) динуклеотиди. Метилирането на ДНК се катализира от клас ензими, известни като ДНК метилтрансферази (*DNMT*). Докато *DNMT3A* и *DNMT3B* са отговорни за метилирането на ДНК по време на ембрионалното развитие или в отговор на предизвикателствата, свързани с околната среда, *DNMT1* е отговорен за ДНК метилирането по време на клетъчното делене (*Edwards et al., 2017; Luo et al., 2018; Schmitz et al., 2019*). *DNMT3L*, който действа като кофактор на *DNMT3A* и *DNMT3B* по време на *de novo* ДНК метилирането, е необходим за „баркодинга“ на генома на бозайниците (*Hanna and Kelsey, 2014; Basu, 2016; Veland et al., 2019*). Има и други *DNMT*, които участват в различни биологични процеси. Например *DNMT3C* е отговорен за заглушаването или изключването на ретротранспозони (*Barau et al., 2016*), докато *DNMT2* играе активна роля в метилирането на РНК и експресията на малки ncRNAs (*Raddatz et al., 2013; Jeltsch et al., 2017; Zhang et al., 2018*). Има активна и пасивна деметилация. Пасивната деметилация се извършва чрез ТЕТ протеини (*ten-eleven Translocation methylcytosine dioxygenases*) (напр. ТЕТ1, ТЕТ2 и ТЕТ3), които посредничат за окисляването на 5mC за получаване на 5-хидроксиметилцитозин (5hmC), 5-формилцитозин (5fC) и 5-карбоксилцитозин (5caC) (*He et al., 2011; Wu, Zhang, 2017*). Активната деметилация е когато в зависимост от репликацията разреждането на 5hmC, 5fC и 5caC или тимин ДНК гликозилаза (TDG)-медирана ексцизия на 5fC и 5caC е съчетана с основна модификация в ексцизията (*Wu, Zhang, 2017*). Има и други независими от ТЕТ-TDG механизми за посредничество при активна деметилация на ДНК (*Wu and Zhang, 2010, 2014; Bochtler et al., 2017*).

Въздействието на ДНК метилирането върху генната експресия е свързано с неговото разпределение в генома. Богатите на СрG региони (известни също като СрG острови) често се разпространяват в промоторните региони (обикновено се простират до 50UTR) и обикновено не са метилирани, като неправилно протичащото метилиране може да доведе до потискане на съответната транскрипция и генно заглушаване (*Deaton and Bird, 2011; Smith et al., 2020*). Около 72% от промоторите са на СрG островите и са почти неметилирани, като тяхната дейност може да бъде регулирана чрез ДНК метилиране (*Saxonov et al., 2006; Deaton and Bird, 2011*). Повечето промоторни СрG острови (обикновено неметилирани) избягат *de novo* метилиране по време на всички етапи на развитие, а активността на промоторите със средно до високо съдържание на СрG е в негативна корелация с техния статус на метилиране на ДНК (*Weer et al., 2007*). ДНК метилирането може да наруши генната експресия чрез пряко инхибиране на свързването на транскрипционния фактор (TF) или непряко посредничество чрез протеини в метил-свързващата област (MBD), които катализират хроматин-модифициращи действия в метилирана ДНК (*Zhu et al., 2016; Yin et al., 2017; Greenberg and Bourc'his, 2019*). Отбелязано е, че има вероятност TF да предизвикват местно епигенетично ремоделиране (*Wapinski et al., 2013*). Установено е, че ДНК метилирането в секвенции за разпознаване на някои TF променя тяхната специфичност за свързване и по този начин намалява свързващата активност (*Zhu et al., 2016, Yin et al., 2017*). MBDS, например метил-СрG свързващ протеин 1 (MeCP1) и протеин, свързващ метил-СрG 2 (MeCP2), показва, че ДНК метилирането е свързано със структурата на хроматина и генната експресия. С изключение на свързването с богатия на СрG хетерохроматин,

някои MBDS съдържат транскрипционен репресорен комплекс, който може да предизвика деацетилиране на хистони и ремоделиране на хроматина, допринасящи за генното заглушаване (*Greenberg and Bourc'his, 2019*).

ДНК метилиране се среща и в интроните (*Maunakea et al., 2010*), основно запазено при еукариоти и е свързано с транскрипцията (*Lister et al., 2009; Varley et al., 2013*). От друга страна, ДНК метилирането в генома потиска вътрегенните промотори и играе роля на транскрипционен репресор. В сравнение с добре установената репресивна функция на регулаторните елементи, по-малко се знае за регулирането на метилирането на ДНК и функцията(ите) в интергенните региони. Интергенните региони са населени основно с регулаторни гени на ncRNA и други регулаторни елементи, които все още предстои да бъдат описани, и ДНК метилирането в тези региони потенциално регулира тези фактори. Районите надолу по веригата на гените съдържат места за свързване с miRNA, които могат да взаимодействат с ДНК метилирането и да регулират генната експресия.

Един от епигенетичните фактори, който влияе всеобхватно е метилирането на ДНК. То представлява прибавяне на метилови групи (CH₃) към една от 4-те нуклеотидни бази в молекулата на ДНК, т.е. към цитозиновите остатъци в определени области на хромозомите. Този фактор включва добавяне на 5` метил към гуанин-цитозиновата двойка от веригата на ДНК, известно повече като CpG (цитозин-фосфат-гуанозин). Регионите богати на CpG са известни като CpG острови. Въздействието на ДНК метилирането върху генната експресия е свързано с разпределението му в генома. Метилирането представлява най-добре проученият и вероятно най-устойчивият от много други фактори, контролиращи генната експресия. Метилирането може да доведе до генно заглушаване, докато хипометилирането – най-вече до експресия на конкретни гени. Метилирането на ДНК може лесно и евтино да бъде картографирано. То се влияе и от факторите на околната среда. В момента най-добрите биохимични маркери за определяне на възрастта на индивидите се основават на моделите на метилиране. Някои изследователи предполагат, че една от причините за стареенето са епигенетичните промени (включително метилирането). Епигенетичните биомаркери са биохимични маркерни последователности в генома, които дават информация за експозициите на индивидите през жизненият им цикъл. Тези маркери представляват напредък на молекулярно ниво при охарактеризиране на показателите за благосъстоянието на животните (*Wang M. and Ibeagha-Awemu E.M., 2021*).

2) Модификации на хистони

Модификацията на хистони е друг важен епигенетичен механизъм със значително въздействие върху хроматиновата регулация и регулацията на транскрипционните процеси (*Adamczyk, 2019*). Хистоните са от семейство протеини (H1/H5, H2A, H2B, H3 и H4), които фиксират и подреждат молекулата на ДНК в структурни единици, наречени нуклеозоми. N-терминалните опашки на хистоните са подложени на различни посттранскрипционни или посттранслационни модификации с над 100 форми (напр. лизинова ацетиляция, лизин метилиране, убиквитиниране и фосфорилиране на серин/треонин, кротониляция, *sumoylation* (добавяне на малки убиквитин свързани модифициращи протеини, съдържащи около 100 АК (*Small*

Ubiquitin-related MOdifier protein” (SUMO)) с различно въздействие върху описаните транскрипционни дейности (Kouzarides, 2007; Roma-Rodrigues et al., 2020).

Хистоновата ацетилация и метилацията често се срещат при АК (аминокиселини), което е съкращение на N-терминалните опашки в резултат на взаимодействието на свързаните ензими или фактори (Srivastava et al., 2016). Хистоновите ацетилтрансферази са отговорни за хистоновата ацетилация, която играе важна роля в освобождаването на хроматиновата структура (взаимодействие хистон-ДНК) и насърчаването на транскрипционните дейности, докато хистоновите деацетилази причиняват деацетилиране и потискане на генната експресия (Dose et al., 2011; Schmauss, 2017). По подобен начин динамичните промени на хистонното метилиране, които обикновено се класифицират като три-, ди- и монометилиране на лизин остатъци и монометилиране на аргининови остатъци, се регулират от хистон метилтрансферази и деметилази (Ye et al., 2017). Въздействието на хистонното метилиране върху транскрипционната активност е сложно и зависи както от модифицираните остатъци, така и от състоянието на метилирането (Jambhekar et al., 2019). В допълнение фосфорилирането на хистоните, убиквитинирането и ADP рибозилирането са отговорни за регулирането на увредена ДНК и транскрипционните дейности (Liu C. et al., 2017; Alhamwe et al., 2018; Shanmugam et al., 2018).

3) Ремоделиране на хроматинова структура

Ремоделирането на хроматина се случва, когато аденозинтрифосфат (АТФ)-зависимия протеинов комплекс променя местоположението и/или структурата на нуклеозомите.

Динамиката на хроматиновата структура винаги съответства на модела на генна експресия при клетъчната диференциация (Kishi, Gotoh, 2018; Quan et al., 2020). В допълнение към ковалентната модификация на ДНК и хистоните, ремоделирането на нуклеозомата е друг важен определящ фактор за хроматиновата структура. Формирането на нуклеозоми, което е от решаващо значение за уплътняването на геномната ДНК в хроматин, има присъщи динамични свойства, регулирани от хроматиновите ремоделиращи комплекси, за да се осигурят геномни ДНК функции в хроматина (Zhou C. Y. et al., 2016; Kobayashi, Kurumizaka, 2019). Все по-често се появяват доклади за големи хроматинови ремоделиращи комплекси и доказателства за техния съществен регулаторен потенциал, свързан с транскрипционните дейности и генната експресия по време на всички жизнени процеси (Bhattacharjee et al., 2016; Kim and Kaang, 2017; Stachowiak et al., 2020). Зависимите от аденозин трифосфат (АТФ) комплекси за ремоделиране на хроматина използват енергията, получена от АТФ хидролизата, за да променят нуклеозомната структура и следователно да регулират достъпа на ДНК до TF (Hota, Bruneau, 2016). Като представител на АТФ-зависимите комплекси, свързаните с BRM/BRG1 комплекси, известни също като SWI/SNF комплекси, имат различна роля в генното активиране и репресия по време на жизнения цикъл на индивидите (Clapier et al., 2017; Alfert et al., 2019; Hota et al., 2019). BAF комплексите се състоят от над 15 различни субединици с разнообразни роли в различни стадии на развитие на бозайниците, включително ембриогенеза, развитие на нервна

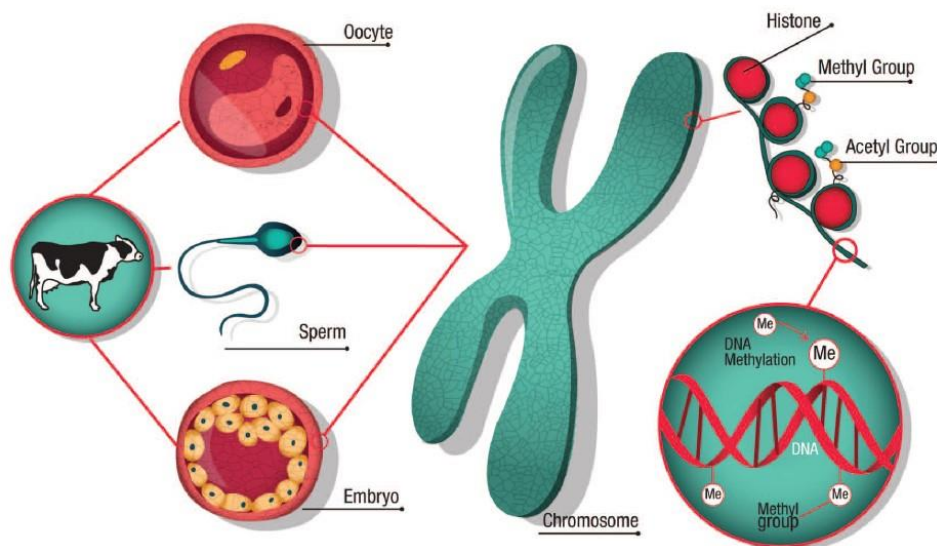
система, развитие на сърдечно-съдова и кръвоносна система, развитие на мускулатурата, развитие на имунните клетки и др. (Nguyen et al., 2016; Sokpor et al., 2017; Sun et al., 2018). Хомоложен на BAF комплекса, ремоделиращият комплекс RSC (ремоделирана структура на хроматин) е богат и основен ядрен протеинов комплекс с важна роля в транскрипционните и други клетъчни процеси, включително инициране и удължаване на транскрипцията, както и репликация, сегрегация и поправката на хромозоми (Klein-Brill et al., 2019; Ye et al., 2019). RSC комплексът може частично да наруши взаимодействието хистон-ДНК чрез стабилно свързване с нуклеозомите или също така може да разглобява или „плъзга“ нуклеозомата чрез зависима от ДНК-последователността система, която е необходима за образуването на регион без нуклеозоми чрез премахване на нуклеозомата от началото на транскрипцията (TSSs). Също така комплексът за нуклеозомно ремоделиране и деацетилация (NuRD) (много опазен при бозайниците), първоначално определен като транскрипционен репресор, свързва хистоновите модификации с нуклеозомното ремоделиране и взаимодействието с множество TF (Feng and Zhang, 2003; Liang et al., 2017). Данните за целия геном разкриват наличието на комплекса NuRD при всички активни енхансери (*Енхансер е кратък участък от ДНК, който може да бъде свързан с протеини, за да се увеличи вероятността да се случи транскрипция на определен ген. Тези протеини обикновено се наричат транскрипционни фактори.*) и промотори в различни клетки, както и че NuRD може да предизвика модификации на хистоните при енхансерите и промоторите на активни гени и по този начин да предизвика техните репресии (Miller et al., 2016; Yang et al., 2016; Bornelöv et al., 2018).

4) Регулиране на некодиращата РНК.

Микро РНК (miRNA) и малки интерфериращи РНК (siRNAs) са къси РНК последователности с размер ~22 нуклеотида, които се намират в растенията и бозайниците. Те регулират генната експресия на пост-транскрипционно ниво и участват в транскрипционните промени и стъпки, които определят клетъчната съдба и фенотипа (Urrego R. et al., 2014).

В допълнение към класическите епигенетични фактори (ДНК метилиране, модификация на хистони и ремоделиране на хроматина), ncRNAs също играят важна регулаторна роля в генната експресия и модификацията на хроматина, оказващи въздействие върху индивидите и здравния им статус (Do et al., 2017; Benmoussa et al., 2020). ncRNAs са клас РНК, които посредничат функциите на РНК (не се транслират в протеини) и като цяло регулират генната експресия на транскрипционните и посттранскрипционните нива. ncRNAs с епигенетични функции пречат на транскрипцията, стабилността на mRNA или трансляцията и включват малка интерферонна РНК (siRNA), piwi-интерактивна РНК (piRNA), микроРНК (miRNA) и дълга некодираща РНК (lncRNA) (Kaikkonen et al., 2011; Wei et al., 2017). Например някои miRNA, регулирани от DNMT1, участват в регулирането на развитието на млечните жлези и кърменето при млекодайнните говеда (Do et al., 2017b; Melnik and Schmitz, 2017a). Свързването на miRNA с конкретна цел, водещо до разграждане или блокиране на транскрипцията на иРНК, може да предизвика промяна в процеса на ДНК метилирането (Lamouille et al., 2014). Установено е, че ncRNAs участва в регулирането

на епигенетичните промени както в ДНК, така и в хистоните (Sabin et al., 2013). Въздействието на регулирането на ncRNA върху производителността на животните е обхванато основно в научните трудове на Do, Ibeagha-Awemu, 2017; Wara et al., 2019; Kosinska-Selbi et al., 2020.



Фигура 1: Схематично представени епигенетични фактори по време на развитието на ембрион. Няколко епигенетични фактори, настъпващи по време на образуването на гамети и ранното развитие на ембриона могат да променят генната експресия, което от своя страна се отразява негативно на ембриогенезата. Ацетилирането на хистони в специфични лизинови остатъци се свързва най-вече с транскрипционна активност, докато метилирането на други хистоновни аминокиселини и метилирането на ДНК имат тенденцията да бъдат свързани с транскрипционна репресия (Urrego R. et al., 2014).

Епигенетичните фактори са проучени добре при гризачи, сравнително добре при човека и по-малко при домашните животни (Feeney et al., 2014). Епигенетичните изследвания са използвани в много области, например фармакология (Nilsson et al., 2018), хранене (Lyko et al., 2010) и хуманно отношение (Pertille et al., 2020). Науката се позовава на идентифициране на епигенетични маркери за дългосрочен стрес в индустриалното животновъдство в частта, касаеща благосъстоянието на животните. Очакванията на бизнеса са животновъдството да продължи да се развива, за да може да отговори на нарастващото потребление на животинска продукция.

Въпреки, че епигенетичните фактори са доста консервативни и са непроменени при повечето видове, специфичните епигеноми са силно различаващи се между отделните видове. Модификации на тези епигенетични процеси може да възникнат при пряко излагане на заобикалящата среда по време на критични периоди в развитието на организмите. По този начин всяко поколение, което е изложено по някакъв начин директно на екологични стресови фактори, може да бъде епигенетично променено по

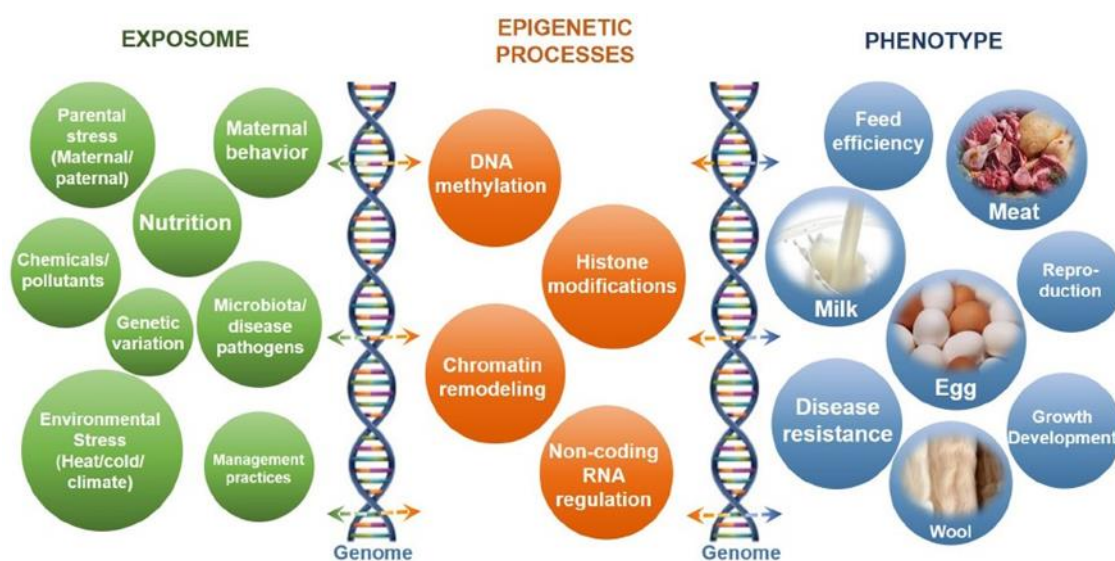
някакъв начин, като тези промени не са същите като промените в генната експресия, свързани със стареенето на индивидите.

Епигенетичните промени са в основата на много процеси, които протичат при нормалното развитие на организма, но могат да доведат и до развитие на заболяване. Пренаталните рискови фактори, включително неоптималното хранене на родителската двойка (количество/качество на фуража), стрес на родителите, излагане на химикали от заобикалящата среда и асистираната репродукция могат да предопределят постнаталния растеж, ефективното усвояване на фуражите, млечността, промените, настъпващи в тялото, благосъстоянието на животните и репродуктивния им потенциал. Например неблагоприятни събития и процеси в ранна ембрионална възраст могат да доведат до сериозни промени в ДНК метилирането, които остават отпечатък и влияят сериозно върху активността на гените през целия живот. Различни фактори могат да повлияят на индивидите през целия им живот и комбинираното им взаимодействие с епигенетичните фактори е възможно да повлияе върху продуктивността на селскостопанските животни (фигура 2).

➤ **Храненето** е основният определящ фактор от заобикалящата среда за растежа и развитието на индивида. С цел подобряване здравето и благосъстоянието на животните, намаляване на производствените разходи и адаптиране към глобалното затопляне, усилията на учените са съсредоточени върху създаване на нови хранителни добавки в животновъдството и изследване на свързаните с приема им въздействия. Например, прекомерното хранене или недохранването могат да доведат до отключване на епигенетични фактори (ДНК метилиране, хистонови модификации и регулиране на некодираща РНК) в зародишните клетки и предаване на следващите поколения (*Guo et al., 2020*). Редица проучвания показват, че хранителната дажба и недостатъчната енергия, може да предизвика отключване на епигенетични фактори, причиняващи промяна в генната експресия. Също така храненето по време на бременност, поражда отключване на епигенетични фактори в плода с дългосрочно влияние върху развитието и продуктивността на потомството и репродуктивната способност на женското потомство. Качеството на диетата на животните оказва влияние и върху продуктивността на различните селскостопански животни – млечната продуктивност при породите говеда и овце млечно направление; качество (рН, цвят на месото и характеристики на кланичните трупове) и трупане на мускулна маса (*Musculus latissimus dorsi* и регулиране експресията на миостатиновия ген (*MSTN*), отговорен за натрупването на мускулна маса) в породите месно направление (говеда и овце) и свиневъдството; носливост при кокошки носачки чрез добавяне на бетаин за по-добро яйцепроизводство; производство на вълна от овце и кози – ДНК метилирането и ацетилирането на хистони активно допринасят за регулацията на образуването на фетални фибробласти при кози, които са от решаващо значение за производството на кашмир (*Palazzese et al., 2018*);

➤ **Стресът от заобикалящата среда** – включващ топлинния стрес, наличието и циркулацията на патогени, промяната в хранителната диета и др. – това са факторите, които имат решаващо влияние върху индивидуалното здраве и продуктивност на животните. Редица автори посочват множество настъпили епигенетични промени, в

следствие на стресови фактори от заобикалящата ги среда. Топлинният стрес има отрицателно въздействие върху продуктивността и благосъстоянието на животните, което може да продължи да създава голямо безпокойство и в бъдеще поради глобалното затопляне. Например епигенетичната регулация е свързана с ефектите на бетаина върху намаляването на топлинния стрес при домашните птици (Saeed et al., 2017). Хипоксичният стрес също е важен фактор, който засяга растежа на свинете, особено в районите с голяма надморска височина. Хиперметирането на *CD4* промотора потиска генната му експресия при крави порода Холщайн с клиничен мастит. Променения метилом в отговор на по-ниски дози на липополизахариди (LPS) (1-10 EU/ml) повлияват експресията на гени, свързани с производството на мляко в епителните клетки на млечните жлези при крави. Докато високите дози LPS (>10 EU/ml) индуцират хипометиране на гени по време на имунния отговор. В тъканите на млечните жлези на маститни крави (мастит, причинен от различни патогени, включително *Escherichia coli* и *S. Aureus*) са идентифицирани метилирани области. В допълнение към метилирането на ДНК, хистоновите модификации също допринасят за имунитета в млечните жлези. Важен аспект при овцете е наблюдаването на абнормални нива на ДНК метилиране в гени, отговорни за транспортирането и сигнализацията при наличие на патогенеза при заболяването скрейпи (Hernaiz et al., 2019).



Фигура 2: Влияние на епигенетичните регулаторни фактори в животновъдството в отговор на различни фактори на въздействие или експозома. Показани са често срещаните фактори на въздействие или експозома (вляво), които са в пряка връзка с епигенетичните фактори (в средата) и геномната структура, за да повлияят на фенотипния резултат (вдясно)

➤ Голяма част от изследванията се фокусират върху епигенетичните ефекти на експозицията на заобикалящата среда към **токсични и/или хранителни вещества и инфекциозни агенти**, които оказват влияние директно върху самите експонирани животни или пряко на поколението им. Едно от първите проучвания относно епигенетичните трансгенерационни ефекти при свине е ефекта от хранителните микроелементи, с които са хранени мъжки прасета и тяхното въздействие върху

метирирането на ДНК в чернодробните клетки и мускулната маса при тяхното поколение (F2 поколение). Последните изследвания показват, че следващите поколения, които не са били подложени на експозиция, все още могат да бъдат засегнати поради епигенетично трансгенерационно унаследяване, ако експозицията е настъпила по време на чувствителни периоди от развитието на зародишните клетки. Например, ако бременно животно е изложено на токсини по време на определяне на пола на плода, след това се променят феталните зародишни клетки и е възможно да настъпят епигенетични промени. Тези поколения и гамети, които се срещат в потомството са директно изложени на токсините и наблюдаваните промени в F1 и F2 поколения не са трансгенерационни. Въпреки това, епигенетичните фактори в поколение F3 ще се считат за трансгенерационно наследени. Ако мъжко животно или небременно женско възрастно животно е изложено на фактори на околната среда, тогава се вземат предвид промените, наблюдавани в поколението F2 или по-късно трансгенерационно. Необходимо е да се обърне внимание на пестицидите, тъй като е доказано, че те имат сериозни трансгенерационни и епигенетични ефекти върху много животински модели, засягащи нервната, репродуктивната и ендокринната системи и дори причиняващи рак.

Във фермата и в цялост за животновъдството е от изключителна важност здравето жизнеспособно потомство и епигенетичните различия могат да бъдат свързани с производствени черти. Поради тази причина е **наложително да се насърчават по-нататъшни изследвания в областта на епигенетиката, касаещи здравето на домашните животни и как излагането на токсични вещества или хранителните промени влияе на бъдещите поколения.** В различни страни се насърчават научните изследвания, свързани с приложението и ефектите на епигенетиката в селското стопанство – при птици, свине, говеда, овце и кози.

Хетерозисът¹ е критично важен, когато е прилаган при развъждането на опитомени животни, а епигенетиката има критична роля в хетерозиса, ето защо епигенетичното унаследяване ще бъде важно за оптималното развитие при одомашнените породи животни. Имайки предвид проблемите с постоянно нарастващото население и респективно нарастващата нужда от хранителни източници и обезпечаване на продоволствената сигурност, е вероятно да има по-ефективни начини за откриване и насърчаване на по-благоприятна селекция с помощта на епигенетичните фактори при развъдната дейност и размножаването, като се обърне специално внимание върху намаляване заболяемостта и възприемчивостта на продуктивните животни към инфекции.

Епигеномът е силно динамичен през целия живот на индивидите и се управлява от сложни взаимодействия между генетичните фактори и факторите на околната среда (Kouzarides, 2007). При хората и различни видове бозайници (най-често плъхове и мишки) са разработени биомаркери за определяне на хронологична възраст, които използват данни за метилиране на ДНК. Концепцията на тези т.нар. „епигенетични

¹ Хетерозисът (хетерозисният ефект) е явление, което се изразява в ускоряване на растежа и увеличаване на размерите, в повишаване на жизнеспособността и продуктивността на хибридите от първото поколение, получени от кръстосване (Хибридизация) на неродствени или отгледани при различни условия растителни или животински индивиди.

часовници“ е взаимовръзката между нивата на метилиране в целия геном и възрастта. Тези часовници дават възможността да се направи надеждна прогноза за хронологичната възраст на съответния индивид, независимо от взетия тип проба. Метилираната ДНК и miRNA имат висока стабилност в различни типове проби – тъкан, кръв, урина, плазма, мляко и др. (Wang et al., 2021).

Част от проучванията показват, че отклонението между истинската възраст и получената от молекулярния часовник възраст е показателно за минало и/или настоящо здравословно състояние (включително преживян стрес). Следователно тези „молекулярни часовници“ имат потенциал и биха могли да се използват при разработване на развъдните програми и пресмятането на развъдната стойност в животновъдния сектор като показател за продуктивност, свързана с възрастта на съответното животно. В животновъдния сектор дълголетието на животните е от значително икономическо значение и също така представлява мярка за хуманно отношение и благосъстояние на животните. Ако епигенетичния/молекулярния часовник дава добри и надеждни резултати, би могло да се увеличи продуктивността на животното. Удължаването на продуктивния живот на животното право пропорционално увеличава рентабилността за развъдчиците чрез: (1) намаляване на разходите за отглеждане на ремонтни животни; (2) подобряване на средната продукция на стадото чрез увеличаване броя на високопродуктивните възрастни животни, например по-голям брой на лактиращите крави в млечно стадо; (3) оптимизиране на използването на земята чрез намаляване на площта, необходима за отглеждане на ремонтни животни; и (4) намаляване на необходимостта от умъртвяване на животни (например продуктивни, доходоносни животни поради заболяване, нараняване или безплодие), като същевременно се увеличава замяната на животни по желание на фермера (убиване или продажба на животни, които са здрави, но не отговарят на изискванията за производителност по развъдна програма).

През 2020 г. броят на месодайните говеда в Нова Зеландия е 4 милиона, 6,1 милиона крави млечно направление, 26,2 милиона овце и 70 000 млечни кози. Успоредно с добре разработените развъдни програми, новозеландските учени са разработили „епигенетични часовници“, които дават възможността точно да се оцени хронологичната възраст на овцете, козите и говедата. Тези молекулярни часовници представляват инструмент за определяне на биологичната възраст на животните, който ще бъде особено полезен в селскостопанските системи и предлага потенциал за определяне на молекулярния фенотип за устойчивост на стрес за целите на отглеждането (Caulton. et al., 2021).

Говеда

Изследвана е връзката между ДНК метилирането и производството на мляко при говеда, млечно направление. По време на лактация α S1-казеиновия ген е хипометилиран. Изследванията характеризират този ген по време на различни физиологични състояния (напр. по време на лактация) и установяват, че свързващият енхансер на гена, отговорен за лактацията (STAT5A) е хипометилиран.

Urrego et al., 2014 разглеждат епигенетиката от друг ъгъл. Както е известно, в глобален аспект в говедовъдството се използват технологии за асистирана репродукция (АРТ). Тези технологии включват: изкуствено осеменяване, ембриотрансфер, *in vitro* производство на ембриони и ядрен трансфер на соматични клетки. АРТ в съвременното говедовъдство е важен инструмент за подобряване на производството в млечното и месодайното говедовъдство, целящо да се съкрати генерационния интервал. Най-често срещаното от асистираните технологии в практиката е производството на ембриони *in vitro* (*in vitro*). Въпреки това, говеждите *in vitro* ембриони се различават значително от *in vivo* (*in vivo*). По-ниския капацитет на развитие на тези ембриони може да се дължи на стреса на който са изложени гаметите и/или ембрионите по време на *in vitro* ембрио продукцията, по-специално хормоналното стимулиране на яйчниците, фоликуларната аспирация, *in vitro* зреенето на яйцеклетките в среда с хормонални добавки, обработката на сперматозоидите и криоконсервацията на гамети. Негативните ефекти на някои АРТ върху развитието на ембриона биха могли поне частично да бъдат обяснени с нарушаване на физиологичния епигенетичен профил на гаметите и/или ембрионите.

Свине

Най-големите производители и износители на свинско месо вече коригираха производствената си верига, за да се съобразят с изискванията за хуманно отношение към животните. Например в Обединеното кралство и в Европейския съюз родилните боксове за бременни свине са забранени и подобна тенденция се наблюдава в Бразилия с неотдавнашната директива за установяване на добри практики за управление на животните и хуманно отношение към свинете, отглеждани в промишлени ферми.

Креатинкиназата (СК) е ензим, участващ в цикъла на лимонената киселина, произвеждаща енергия в митохондриите. Много проучвания показват, че кодиращата го последователност служи като биомаркер в тъканите на селскостопански животни, отглеждани при различни нива на благосъстояние. Тези проучвания предполагат, че животни с висок СК по време на клането преди това са били подложени на стресови ситуации (*Fidan et al., 2015*).

По същия начин, измерването на серумните концентрации на лактат също се оказва обещаващ биомаркер, главно за измерване на стреса преди клането, въпреки краткия му полуживот.

Хормоните са друг известен индикатор за благосъстоянието на животните. Кортизолът, например, е глюкокортикоиден хормон, който се освобождава при стресови ситуации и е способен да влияе на някои физиологични процеси. Той също играе основна роля като биохимичен маркер за остър или средносрочен стрес в животновъдството. Варирането в нивото на кортизола не винаги е индикатор за стрес, тъй като както положителните, така и отрицателните експозиции могат да повлияят на отклонението му (*Pollard et al., 1995*).

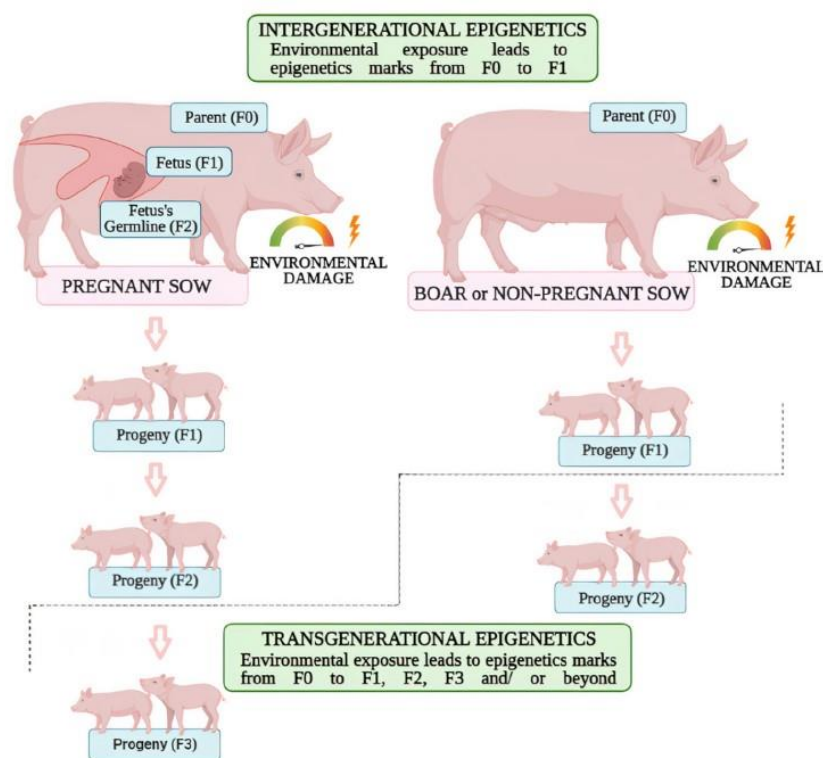
Последните научни изследвания показват, че **протеомиката**² може да бъде предпочитан подход за оценка на краткосрочен стрес, докато епигенетиката може да бъде по-добър показател за ранно прогнозиране на чувствителността към стрес и подходящ подход, който да бъде добавен към развѐдните стратегии и програми (*Kasper et al., 2020*). Предвид тези факти авторският колектив *Nery da Silva et al., 2022* предполагат, че изследването на епигенетичните фактори могат да предложат ценен опит за идентифициране на генома на животни, които са отглеждани при различни условия, което може с по-голяма сигурност да предскаже тяхното благосъстояние през целия живот. Промените в диетата на свинете, като ограничаване на фуража и допълнителни витаминни добавки – витамин С, предизвикват модификации на метилирането на ДНК по време на развитието на зародишната клетка и ембриона (*Zglejcz-Waszak et al., 2019*).

Fan et al., 2012 третираат свински клетки със сулфорафан за епигенетично потискане на миостатина (*MSTN*), което потенциално би могло да доведе до увеличаване на мускулната маса. *Liu et al., 2011* също разглеждат пътя на *MSTN*, за да изследват краткосрочните и дългосрочни епигенетични промени, които настъпват при прасетата в зависимост от майчината диета. Авторите стигат до заключението, че хистоновите модификации и промените в микроРНК експресията влияят в дългосрочен план и играят роля при формирането на скелетно мускулния фенотип. Друго проучване разглежда ДНК метилирането в отговор на променена протеинова и въглехидратна диета на свинете майки по време на бременност. Резултатите показват, че чернодробното метилиране е намалено при фетусите на майки с ниско протеинова диета, вероятно причинени от метионинов дефицит. Това проучване доказва, че **храненето на майката вероятно ще играе роля на епигенетичен фактор върху развитието на ембрионалната тъкан** (*Guo et al., 2020*). *Braunschweig et al., 2012* експериментират в три поколения свине, като целта на проучването е определяне влиянието на ефекта от диетата на животните върху епигенетичното унаследяване в мъжкото потомство. Диетата на експерименталната група мъжки прасета включва високо съдържание на метилирани микроелементи, като резултатът е поколение F2 с по-нисък процент мазнини и по-висок процент мускулна маса в сравнение с контролната група животни. Откриват се значителни разлики в ДНК метилирането между контролните и експерименталните групи, най-вече в чернодробните клетки, като се предполага, че е засегнат епигенетично метаболизма. Редица автори посочват въздействието при излагането на бременни свине майки на химични вещества върху епигенома на поколенията и влиянието на годишния сезон върху епигенома на еякулата на нерезите и плодовитостта им (*Pétille et al., 2021, Wang et al., 2020, Khezri et al., 2019*).

Междугенерационната (вертикална) и трансгенерационната епигенетика са едни от най-обсъжданите теми в областта на унаследяването. Проведено проучване подкрепя разбирането, че предаването на епигенетични белези от едно поколение (F0) на следващото (F1) се осъществява между поколенията, т.е. междугенерационно; докато **предаването на белези, придобити в F0, които се предават на трето или четвърто**

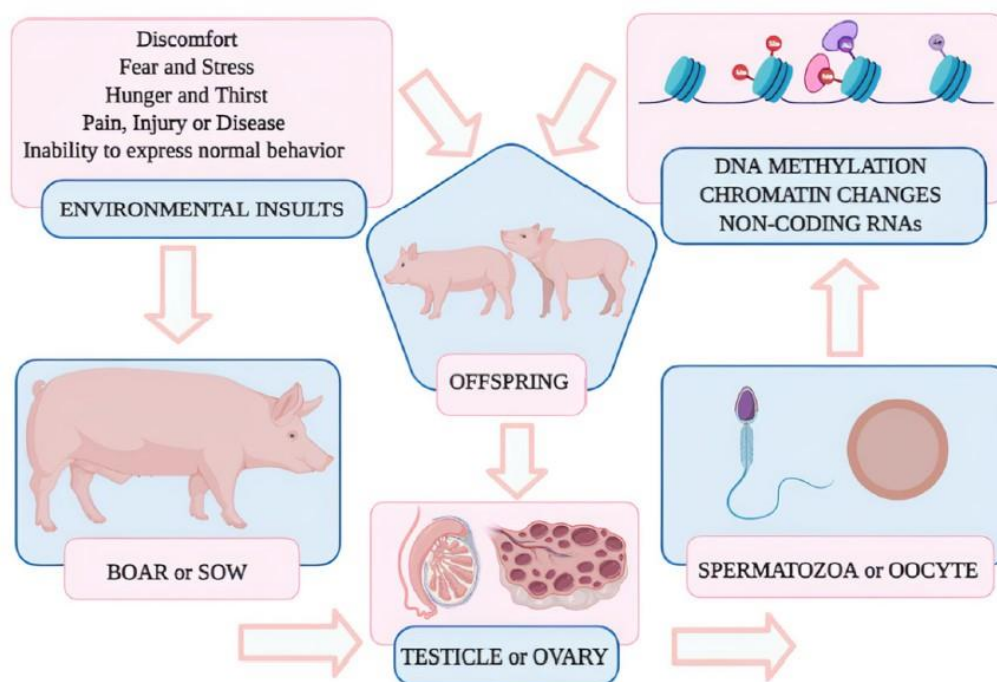
² <https://en.wikipedia.org/wiki/Proteomics>

поколение (F2 за мъжки или F3 за женски) е трансгенерационно епигенетично събитие (Lacal I. and R.Ventura, 2018). Тоест, различен брой поколения са директно засегнати от събития от заобикалящи фактори, когато се касае за мъжки и небременни женски и информацията не се предава чрез бременни женски. Това е така, защото повечето женски бозайници имат ооцити, които са произведени по време на тяхното фетално развитие (Nery da Silva et al., 2022 посочват пример). Следователно, ако бременна женска е изложена на потенциална епигенотоксична експозиция от външната среда, то не само плодът ще бъде пряко засегнат от този външен увреждащ фактор, но също и зародишните клетки на плода. В обобщение, три поколения могат да бъдат епигенетично засегнати от влиянието на външната среда: F0 (соматични и зародишни клетки на бременна женска), F1 (фетус) и F2 (зародишни клетки на плода). На фигура 3 е предоставен пример за трансгенерационно и междугенерационно унаследяване на епигенетични белези при свине.



Фигура 3. Междугенерационно (вертикално) и трансгенерационно епигенетично унаследяване при свине. Когато свинете (F0) са изложени на екологични промени, ще бъде повлиян епигенома на соматичните и зародишните клетки. Ако се касае за бременна свиня, приплодът (F1) и неговите зародишни клетки, т.е. следващото поколение (F2), също ще бъде пряко засегнато. В такъв случай, ако тези епигенетични белези се носят от плода, те остават и се унаследяват в зародишните клетки на следващите поколения (F3 и следващите) и ще има трансгенерационно епигенетично събитие (по Nery da Silva et al., 2022).

Същият авторски колектив представя възможен механизъм на действие на епигенетиката. Авторите предполагат, че негативните фактори, на които са изложени прасетата в производствените предприятия могат да доведат до промени в соматичните и зародишните клетки на животните. По този начин могат да се предават епигенетични белези от родителите на тяхното потомство, но за да се случи това е необходимо тези епигенетични белези да присъстват в зародишната линия (сперма или ооцити). Изводът е, че индивидите натрупват епигенетични белези не само по време на жизнения си цикъл, но също така и посредством унаследяване от родителските линии (фиг. 4).



Фигура 4: Възможен път на епигенетично предаване в промишленото свиневъдство (no Nery da Silva et al., 2022)

Овце

Zhang et al., 2011 разглеждат ефектите от прехранването на овце майки, по време на заплождането и по време на късните етапи от бременността. Те установяват, че прехранването в напреднал стадий от бременността води до повече висцерални мазнини в поколенията и промяна в апетита на поколенията, което предразполага агнетата да преяждат. Екипът от учени стига до извода, че прекомерното хранене в периода около заплождането води до по-високи нива на висцерални мазнини само при женските индивиди от поколенията. Учените заключават, че този белег е полово свързан и с ДНК метилирането. Установено е също, че когато диетата е била ограничена непосредствено преди заплождане (недохранване на майката) се наблюдават изменения в надбъбречните жлези на поколенията и е наблюдавано по-слабо метилиране на генния комплекс *IGF2/H19* в различните метилирани области в клетките на надбъбречната жлеза. Наблюденията предполагат, че **ограничената диета в периода на заплождане не води**

до епигенетични промени в телесното тегло на самата майка, но това увеличава реакцията на стрес в поколението.

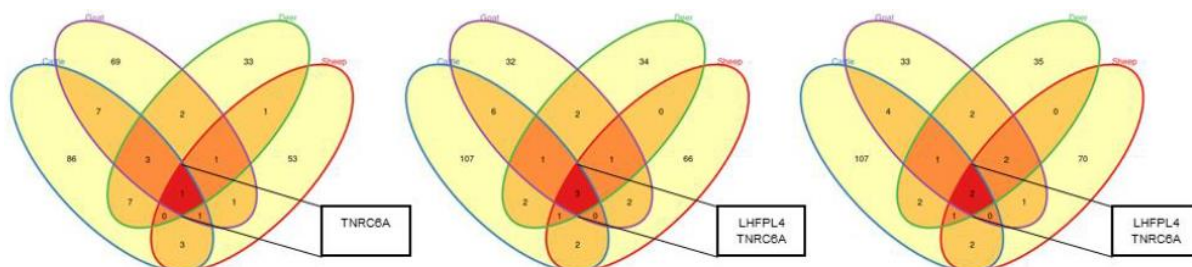
Кокошеви

Съществуват различни епигенетични фактори на развитие, които са изследвани при пилета от различни производствени направления. Като цяло разработването на епигенетичен часовник при бройлери представлява предизвикателство, тъй като при тях животът е с кратка продължителност до 42 дни. Авторският колектив (*Tian et al., 2013*) разглежда диференциално метилиране на ДНК (ДНКм) в клетките от гръдния мускул между бавно и бързо растящи бройлери. Учените установяват, че между двете породи пилета има 75 диференциално метилирани гени, включително няколко гени, отговорни за растежния фактор на фибробластите (FGF). По-ново проучване на *Raddatz et al., 2021* прави допълнително изследване на ниско метилирани региони (LMR), извлечени от 36 тъканни проби (гръден мускул, илеум, йеюлум и далак) от пилета на възраст между 3 и 35 дни. Тъканите са подбрани поради икономическото им значение и поради важната им функция в животинския организъм (илеум, йеюлум). Горната възрастова граница (35 дни) е определена съобразно стандартите (до 1 седмица преди клане). Проучването демонстрира, че използването на LMR подхода е съвместим с други добре проучени животински ДНК метилиращи „часовници“ (СрG). **„СрG часовникът“ показва по-ниска точност на прогнозиране в сравнение с „LMR часовника“ (3.4 дни спрямо 1.6 дни).** Необходимостта от следене на здравния статус на домашните птици е всеизвестна, което поражда и необходимост от разработване, охарактеризиране и прилагане на подходящи биомаркери. Подходът съчетава различни предимства за здравния мониторинг в птицевъдството, които включват наблюдение на различни заболявания при птиците, повлияващи скоростта на „ДНК метилиращия часовник“. Освен това тези метилиращи часовници са устойчиви на влиянията, свързани с възрастта, което е от изключителна важност при динамично развиващите се тъкани.

Между „метилиращите часовници“ при различните животински видове има доказани общи генни локуси, разположени в два функционално анотирани генни региона, TNRC6A и LHFPL4, съответно при говеда, свине, птици, кози и овце.

TNRC6A кодира член на тринуклеотидния повтор, съдържащ 6 протеинови семейства и е последователно деметилиран с увеличаване на възрастта. Деметилирането на този генен локус преди е било свързано със стареенето в подобни проучвания на епигенетични часовници при прерийни полевки и примати. LHFPL4 генът е член на семейството на гените, отговорни за синтеза на липома HMGIC (LHFP), което е подгрупа от суперсемейството кодиращи гени на тетраспан трансмембранни протеини. LHFPL4 играе роля в регулирането на образуването на инхибиторни синапси и поддържането на GABA рецепторите. Въпреки че няма очевидни връзки между неговата функция и процеса на стареене, два цитозина, разположени в екзон 2 на LHFPL4, са най-предсказуеми и най-консервативни, наблюдавани сред всички видове животни при разработването на „универсален епигенетичен часовник“ за бозайници и са показали ясна корелация с възрастта $> 0,8$ в 24 вида животни. По-нататъшната работа на *Lu et al.,*

2021 разкрива, че метилирането на LHFPL4 cg12841266 е силно свързано както с етапите на развитие ($r=0,58$ и $P=8,9 \times 10^{-11}$), така и с етапите след развитие ($r=0,45$ и $P=2,3 \times 10^{-76}$) в редица типове тъкани. Важно е, че промени в нивата на метилиране на LHFPL4 постоянно се наблюдават като свързани със стареенето при млади животни, както и при животни на средна и старческа възраст, което предполага, че този ген играе роля през целия живот на бозайниците от развитието до зряла възраст.



Фигура 5: Диаграми на Venn, изобразяващи припокриването на CpG сайтове, включени във всеки от „метилиращите часовници“ на отделните видове животни - CpG сайтовете, общи за всичките „часовници“, се намират в гените TNRC6A и LHFPL4.

Заклучение

През последното десетилетие интересът към епигенетичното унаследяване нараства и показва огромен потенциал за отговор на научни въпроси в различни области. В областта на хуманното отношение към животните са направени ценни опити за идентифициране на предполагаеми епигенетични биомаркери за стрес. Тези знания могат да имат потенциал за повишаване на продуктивността и здравето на животните и качеството на месото. Използването на епигенетиката като инструмент за сертифициране на хуманното отношение към животните може да бъде една от новите тенденции в животновъдството. Въпреки немалкото проучвания, свързани с репродукцията, развитието, растежа и продуктивността на селскостопанските животни, качеството на продукцията, здравето и имунния отговор към определени инфекциозни агенти, ролята на епигенетиката и основните ѝ механизми остават все още не напълно изяснени. Една от основните цели за в бъдеще е епигенетиката да бъде включена като мярка и стратегия за постигане на желани фенотипни и генотипни параметри на животните, което ще подпомогне вземането на решения, свързани с подобряване системите за отглеждане и развъждане на продуктивни животни, постигане на качествено хранене и подобряване на производствената система като цяло. Затова е необходимо да се насърчават проучвания, свързани с трансгенерационното унаследяване на епигенетичните белези и епигенетичните фактори и тяхната роля. При някои селскостопански животни продължителността на живота и генерационния интервал между поколенията е по-голям, което отнема повече време и ресурси при провеждане на епигенетични проучвания. От изключителна важност е отглеждането на здрави и жизнеспособни животни и тяхното поколение. Все по-често се наблюдава социален натиск за намаляване на ваксинацията и употребата на антибиотици за

продуктивни животни като в това направление епигенетичните изследвания също могат да спомогнат, осигурявайки подход към намаляване на заболяванията и повишаване на имунитета. Също така изследванията, касаещи здравето на одомашнените животни и как излагането им на токсични вещества като пестициди засяга бъдещите поколения, са наложителни.

Източници:

- Alex Caulton, Ken G. Dodds, Kathryn M. McRae, Christine Couldrey, Steve Horvath, Shannon M. Clarke. *Development of epigenetic clocks for New Zealand livestock*, 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.06.30.450497>
- Berger S.L., Kouzarides T., Shiekhatar R., Shilatifard A., 2009. *An operational definition of epigenetics*. *Genes Dev.*, 23, 781–783.
- Bonduriansky, R., and Day, T. (2009). *Nongenetic inheritance and its evolutionary implications*. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40, 103–125. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173441
- Braunschweig M, Jagannathan V, Gutzwiller A, Bee G: *Investigations on transgenerational epigenetic response down the male line in F2 pigs*. *PLoS One* 2012, 7:e30583.
- European Commission. *Study on the Impact of Animal Welfare International Activities; European Commission: Brussels, Belgium, 2017; Volume 1, pp. 212–213.*
- European Community. *Council directive 2001/88/EC amending Directive 91/630/eec laying down minimum standards for the protection of pigs*. *Off. J. Eur. Community* 2001, 316, 1–4
- Fan H, Zhang R, Tesfaye D, Tholen E, Looft C, Holker M, Schellander K, Cinar MU: *Sulforaphane causes a major epigenetic repression of myostatin in porcine satellite cells*. *Epigenetics* 2012, 7:1379–1390.
- Feeney A., . *Journal of Animal Science and Biotechnology* 2014, 5:48
- Fidan, E.D.; Türkyılmaz, M.K.; Nazlıgül, A.; Aypak, S.Ü.; Karaarslan, S. *Effect of preslaughter shackling on stress, meat quality traits, and glycolytic potential in broilers*. *J. Agric. Sci. Technol.* 2015, 17, 1141–1150.
- Guo, T., Luo, F., and Lin, Q. (2020). *You are affected by what your parents eat: Diet, epigenetics, transgeneration and intergeneration*. *Trends Food Sci. Technol.* 100, 248–261. doi: 10.1016/j.tifs.2020.04.021
- Hernaiz, A., Sentre, S., Bolea, R., López-Pérez, O., Sanz, A., Zaragoza, P., et al. (2019). *“Epigenetic changes in the central nervous system of sheep naturally infected with scrapie,” in Proceedings of the 18th Jornadas Sobre Producción Animal, Zaragoza, España, 7 y 8 de mayo de 2019, Zaragoza, 507–509.*
- Hyde, L.K.; Friso, S.; Choi, S.W. *Introduction to Epigenetics; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2019; ISBN 9780128045725*

- John RM and Rougeulle C (2018). Developmental Epigenetics: Phenotype and the Flexible Epigenome. *Front. Cell Dev. Biol.* 6:130. <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffcell.2018.00130>
- Kasper, C.; Ribeiro, D.; de Almeida, A.M.; Larzul, C.; Liaubet, L.; Murani, E. Omics application in animal science A special emphasis on stress response and damaging behaviour in pigs. *Genes* 2020, 11, 920.
- Khezri, A.; Narud, B.; Stenseth, E.B.; Johannisson, A.; Myromslien, F.D.; Gaustad, A.H.; Wilson, R.C.; Lyle, R.; Morrell, J.M.; Kommisrud, E.; et al. DNA methylation patterns vary in boar sperm cells with different levels of DNA fragmentation. *BMC Genom.* 2019, 20, 897.
- Kouzarides T., 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128, 693-705.
- Lacal, I.; Ventura, R. Epigenetic inheritance: Concepts, mechanisms and perspectives. *Front. Mol. Neurosci.* 2018, 11, 292.
- Liu X, Wang J, Li R, Yang X, Sun Q, Albrecht E, Zhao R: Maternal dietary protein affects transcriptional regulation of myostatin gene distinctively at weaning and finishing stages in skeletal muscle of Meishan pigs. *Epigenetics* 2011, 6:899–907.
- Lyko, F.; Foret, S.; Kucharski, R.; Wolf, S.; Falckenhayn, C.; Maleszka, R. The honey bee epigenomes: Differential methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS Biol.* 2010, 8, e1000506.
- MAPA. Estabelecer as Boas Práticas de Manejo e Bem-Estar Animal nas Granjas de Suínos de Criação Comercial; Diário Oficial da União: Brasília, Brazil, 2020; p. 5.
- Nery da Silva, A.; Silva Araujo, M.; Pértille, F.; Zanella, A.J. How Epigenetics Can Enhance Pig Welfare? *Animals* 2022, 12, 32. <https://doi.org/10.3390/ani12010032>
- Nilsson, E.; King, S.; McBirney, M.; Kubsad, D.; Pappalardo, M.; Beck, D.; Sadler-Riggelman, I.; Skinner, M.K. Vinclozolin induced epigenetic transgenerational inheritance of pathologies and sperm epimutation biomarkers for specific diseases. *PLoS ONE* 2018, 13, e0202662.
- Palazzese, L., Czernik, M., Iuso, D., Toschi, P., and Loi, P. (2018). Nuclear quiescence and histone hyper-acetylation jointly improve protamine-mediated nuclear remodeling in sheep fibroblasts. *PLoS One* 13:e0193954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193954>
- Pértille, F.; Alvarez-Rodriguez, M.; da Silva, A.N.; Barranco, I.; Roca, J.; Guerrero-Bosagna, C.; Rodriguez-Martinez, H. Sperm methylome profiling can discern fertility levels in the porcine biomedical model. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 2679
- Pollard, T.M. Use of cortisol as a stress marker: Practical and theoretical problems. *Am. J. Hum. Biol.* 1995, 7, 265–274.
- Raddatz G., r. Arsenalt, B. Aylward, R. Whelan, F. Bohl and F. Lyko. A chicken DNA methylation clock for the prediction of broiler health. *Communications Biology.* 2021 4:76 <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01608-7>
- Saeed, M., Babazadeh, D., Naveed, M., Arain, M. A., Hassan, F. U., and Chao, S. (2017). Reconsidering betaine as a natural anti-heat stress agent in poultry industry: a review. *Trop. Anim. Health Prod.* 49, 1329–1338. doi: 10.1007/s11250-017-1355-z

- Sinclair K.D., K.M.D. Rutherford, J.M. Wallace, J.M. Brameld et al., 2016. Epigenetics and developmental programming of welfare and production traits in farm animals. *Reproduction, Fertility and Development*, <http://dx.doi.org/10.1071/RD16102>
- Skinner MK, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C: Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, 21:214–222.
- Tian F, Zhan F, Vanderkraats ND, Hiken JF, Edwards JR, Zhang H, Zhao K, Song J: DNMT gene expression and methylome in Marek's disease resistant and susceptible chickens prior to and following infection by MDV. *Epigenetics* 2013, 8(4):431–444.
- Urrego R., N. Rodriguez-Osorio and Heiner Niemann. Epigenetic disorders and altered gene expression after use of Assisted Reproductive Technologies in domestic cattle. *Epigenetics* 9:6, 803-815; 2014
- Wang, X.; Kadarmideen, H.N. Characterization of global DNA methylation in different gene regions reveals candidate biomarkers in pigs with high and low levels of boar taint. *Vet. Sci.* 2020, 7, 77; <https://dx.doi.org/10.3390%2Fvetsci7020077>
- Wang M and Ibeagha-Awemu EM (2021) Impacts of Epigenetic Processes on the Health and Productivity of Livestock. *Front. Genet.* 11:613636. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.613636>
- Zhang, B., Ban, D., Gou, X., Zhang, Y., Yang, L., Chamba, Y., et al. (2019). Genome-wide DNA methylation profiles in Tibetan and Yorkshire pigs under high-altitude hypoxia. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 10:25. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0316-y>
- Zhang S, Rattanatrak L, McMillen IC, Suter CM, Morrison JL (2011). Periconceptual nutrition and the early programming of a life of obesity or adversity. *Prog Biophys Mol Biol*, 106(1):307–314. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2010.12.004>
- daxin - Gal Raz, Jablonka Eva
- dosabin- Lucia Daxinger & Emma Whitelaw
- DNA methylation and DNA methyltransferases - John R. Edwards, Olya Yarychivska, Mathieu Boulard & Timothy H. Bestor
- Epigenetic Mechanisms Contribute to Evolutionary Adaptation of Gene Network Activity under Environmental Selection – Xinyue Luo, Ruijie Song, David F. Moreno, Hong-Yeoul Ryu, Mark Hochstrasser, Murat Acar
- Quality control and evaluation of plant epigenomics data - Robert J Schmitz, Alexandre P Marand, Xuan Zhang, Rebecca A Mosher, Franziska Turck, Xuemei Chen, Michael J Axtell, Xuehua Zhong, Siobhan M Brady, Molly Megraw, Blake C Meyers
- The specification of imprints in mammals - C W Hanna, G Kelsey
- Genome-wide DNA methylation profile identified a unique set of differentially methylated immune genes in oral squamous cell carcinoma patients in India - Baidehi Basu, Joyeeta Chakraborty, Aditi Chandra, Atul Katarkar, Jadav Ritesh Kumar Baldevbhai, Debjit Dhar Chowdhury, Jay Gopal Ray, Keya Chaudhuri & Raghunath Chatterjee
- DNMT3L facilitates DNA methylation partly by maintaining DNMT3A stability in mouse embryonic stem cells - Nicolas Veland, Yue Lu, Swanand Hardikar, Sally Gaddis, Yang Zeng, Bigang Liu, Marcos R Estecio, Yoko Takata, Kevin Lin, Mary W

Tomida, Jianjun Shen, Debapriya Saha, Humaira Gowher, Hongbo Zhao and Taiping Chen

- *The DNA methyltransferase DNMT3C protects male germ cells from transposon activity* - Joan Barau, Aurélie Teissandier, Natasha Zamudio, Stéphanie Roy, Valérie Nalesso, Yann Héroult, Florian Guillou, Déborah Bourc'his
- *Dnmt2-dependent methylomes lack defined DNA methylation patterns* -Günter Raddatz, Paloma M Guzzardo, Nelly Olova, Marcelo Rosado Fantappiè, Markus Rampp, Matthias Schaefer, Wolf Reik, Gregory J Hannon, Frank Lyko
- *CCBE1 Enhances Lymphangiogenesis via A Disintegrin and Metalloprotease With Thrombospondin Motifs-3–Mediated Vascular Endothelial Growth Factor-C Activation* - Michael Jeltsch, Sawan Kumar Jha, Denis Tyorogov, Andrey Anisimov, Veli-Matti Leppänen, Tanja Holopainen, Riikka Kivelä, Sagrario Ortega, Terhi Kärpanen and Kari Alitalo
- *Dynamics and function of DNA methylation in plants* - Huiming Zhang, Zhaobo Lang, Jian-Kang Zhu
- *Metabolic Regulation of Epigenetics* - Chao Lu and Craig B. Thompson
- *TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond* - Xiaoji Wu, Yi Zhang
- *Deaton, A.M. and Bird, A. (2011) CpG Islands and the Regulation of Transcription. Genes & Development, 25, 1010-1022.*<https://doi.org/10.1101/gad.2037511>
- *A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters* - Serge Saxonov, Paul Berg, Douglas L Brutlag
- *CpG islands and the regulation of transcription* - Aimée M Deaton, Adrian Bird
- *Epigenetic Programming and Fetal Metabolic Programming* - Ziqiang Zhu, Fang Cao, and Xiaozhong Li
- *Impact of cytosine methylation on DNA binding specificities of human transcription factors* - Yimeng Yin, Ekaterina Morgunova, Arttu Jolma, Eevi Kaasinen, Biswajyoti Sahu, Syed Khund-Sayeed, Pratyush K Das, Teemu Kivioja, Kashyap Dave, Fan Zhong, Kazuhiro R Nitta, Minna Taipale, Alexander Popov, Paul A Ginno, Silvia Domcke, Jian Yan, Dirk Schübeler, Charles Vinson, Jussi Taipale
- *Hierarchical mechanisms for direct reprogramming of fibroblasts to neurons* - Orly L Wapinski, Thomas Vierbuchen, Kun Qu, Qian Yi Lee, Soham Chanda, Daniel R Fuentes, Paul G Giresi, Yi Han Ng, Samuele Marro, Norma F Neff, Daniela Drechsel, Ben Martynoga, Diogo S Castro, Ashley E Webb, Thomas C Südhof, Anne Brunet, Francois Guillemot, Howard Y Chang, Marius Wernig
- *Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters* - Alike K. Maunakea, Raman P. Nagarajan, Joseph F. Costello
- *Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences* - Ryan Lister, Mattia Pelizzola, Robert H. Downen, R. David Hawkins, Gary Hon, Julian Tonti-Filippini, Joseph R. Nery, Leonard Lee, Zhen Ye, Que-Minh Ngo, Lee Edsall, Jessica Antosiewicz-Bourget, Ron Stewart, Victor Ruotti, A. Harvey Millar, James A. Thomson, Bing Ren & Joseph R. Ecker



Други научни становища и актуална информация от областта на здравето, хуманното отношение и благосъстоянието на животните, антимикробната резистентност, африканка чума по свинете, както и оценка на риска по цялата хранителна верига може да намерите на сайта на Центъра за оценка на риска по хранителната верига:

<https://corhv.government.bg/>

<https://corhv.government.bg/?cat=27>

<https://corhv.government.bg/?cat=71>

ИЗГОТВИЛИ:

Красимира Захариева, главен експерт

Зооинж. д-р Надежда Луканова, онс, старши експерт

Дирекция „Оценка на риска по хранителната верига“, ЦОРХВ

17.06.2022 г.