



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och  
husdjursvetenskap

# Epigenetiskt arv

## Epigenetic inheritance

*Moa Lindell*

*Uppsala  
2019*



# Epigenetiskt arv

## Epigenetic inheritance

*Moa Lindell*

**Handledare:** Sofia Mikko, Sveriges Lantbruksuniversitet,  
Institutionen för husdjursgenetik (HGEN)

**Examinator:** Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet,  
institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** Grundnivå, G2E

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kursansvarig institution:** Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Kurskod:** EX0862

**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2019

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** epigenetik, epigenetisk nedärvning, epigenetiska mekanismer

**Key words:** epigenetics, epigenetic inheritance, epigenetic changes



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning .....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturöversikt .....	3
Epigenetiska Mekanismer .....	3
<i>DNA-metylering</i> .....	3
<i>Histonmodifiering</i> .....	4
<i>RNA-molekylers effekter</i> .....	5
Epigenetisk effekt på fenotyp: enäggstvillingar .....	5
Epigenetisk nedärvning .....	5
<i>Mitotisk överföring</i> .....	6
<i>Transgenerationell nedärvning</i> .....	6
Miljöns inflytande .....	8
<i>DNA-metylering hos honungsbin</i> .....	8
<i>Miljöns inflytande på epigenetisk nedärvning</i> .....	8
<i>Sjukdomar</i> .....	9
Diskussion .....	10
Litteraturförteckning .....	12



## **SAMMANFATTNING**

Epigenetik är den del av genetiken som behandlar förändringar i genuttryck som är oberoende av förändringar i DNA-sekvensen. Det som styr vilka gener som uttrycks och får effekt på fenotyp har studerats av forskare sedan 70-80-talet. Området beskrivs som en bro mellan arv och miljö, då det har diskuterats i vilken grad externa faktorer kan influera genuttryck samt huruvida förändringarna kan ärvas till avkomma. Den här litteraturstudien ämnar granska litteraturens underlag för epigenetiska mekanismers funktion och vilken betydelse de har för en individs fenotyp. Vidare behandlas i vilken utsträckning epigenetisk information överförs till framtida generationer samt miljöns inflytande på epigenetiken.

De epigenetiska mekanismer som redovisas här är DNA-metylering, histonmodifiering och RNA-molekylerns effekter. Vid DNA-metylering sker addition av metylgrupper till kvävebasen cytosins 5'-position i DNA-sekvenser där cytosin direkt angränsar till guanin, så kallade CpG-öar. Förändringen är associerad med inhibering av transkription. Histonmodifiering sker genom addition av kemiska grupper till histonernas histonsvansar genom bland annat metylering, acetylering och fosforylering. Det varierar vad förändringen får för effekt på genuttrycket. Effekter medierade av RNA-molekyler sker genom att molekylerna aktiverar nedbrytning av mRNA alternativt inhiberar translationen av mRNA till protein.

Samtliga granskade epigenetiska mekanismer är associerade med effekt på fenotyp. Genom en studie utförd på enäggstvillingar kunde epigenetiska förändringar sammankopplas med fenotypiska skillnader hos isogena individer.

Överföring av epigenetisk information sker vid mitos genom replikation i samband med klassisk DNA-replikation, samt genom till exempel X-inaktivering. Transgenerationell nedärvning av epigenetiska förändringar sker vid meios bland annat genom självbevarande system, genetisk prägling och paramutation.

Miljöfaktorer som diet, stress och exponering för kemikalier har visat sig påverka epigenomet och är i somliga fall associerade med utveckling av sjukdom. Genom en studie på honungsbin upptäcktes att utvecklingen från larvstadie till bidrottning alternativt arbetsbi styrs genom epigenetiska mekanismer förmedlade av diet. Råttmödrars beteende under digivningsfasen visade sig ha effekt på råttungarnas epigenetiska markeringar och påverkade hur de reagerade på stress som vuxna. Fenotyp i form av förändrad reaktion på stress hos möss visade sig ärvas vidare till avkomman genom överföring av epigenetiska markeringar. Patologiska tillstånd som metaboliska störningar, cancer och reproduktionsproblem har associerats med olika miljöfaktorer och har dessutom visat sig påverka efterkommande generationer.

Sammanfattningsvis demonstrerar litteraturunderlaget att miljöfaktorer påverkar fenotyp hos en individ genom epigenetiska mekanismer, vilka dessutom kan leda till effekter på framtida generationer. Kunskap i området kan anses viktigt inom många humanmedicinska såväl som veterinärmedicinska områden, kanske främst för forskning på genetiska sjukdomar. Om inkorporerat i veterinärmedicin och husdjurvetenskap kan vetenskap om epigenetikens funktion bidra till god djurvälstånd.

## SUMMARY

Epigenetics is the study of changes in gene expression that do not involve alterations in the DNA sequence. The phenotype of an animal is not only determined by the DNA, but also by epigenetic regulation. An increasing amount of studies show that epigenetic changes can be transmitted not only during cell division, but also to future generations. Even environmental factors have been proven to influence the epigenetic marks in the epigenome. This literature study examines the literary basis for epigenetic function and its influence on phenotype. The studies on epigenetic transmission and inheritance together with the influence of environmental factors are also reviewed.

The epigenetic mechanisms presented are DNA methylation, histone modification and effects mediated by RNA. Through DNA methylation, methyl groups are added to the nucleobase cytosine's 5' position in DNA-sequences called CpG-islands, where cytosine is directly adjacent to guanine. This modification is associated with inhibition of gene expression. Histone modifications occur through the addition of chemical groups to the histone tails of histones through methylation, acetylation and phosphorylation. The effects on gene expression of this modification varies. Effects mediated by small RNA-molecules, ncRNA, leads to either the activation of mRNA degradation or the inhibition of mRNA translation.

All epigenetic mechanisms mentioned are associated with an effect on phenotype. This is demonstrated through a study on monozygotic twins, where phenotypical differences between monozygotic twins were linked to epigenetic variation.

Transmission of epigenetic information occurs during mitosis together with DNA-replication and through X-inactivation. During meiosis, epigenetic modifications are inherited through self-sustaining loop-systems, genomic imprinting and paramutation.

Environmental factors such as diet, stress and exposure to chemicals affect the epigenome and are in some cases associated with the development of pathological conditions. In a study on honey bees it was discovered that the development from larvae to queen bee versus worker bee is determined by the diet's influence on epigenetic mechanisms. Maternal behavior in rats proved to affect the epigenome in their offspring and moreover their reaction to stressful situations as adults. Mice who exhibited an abnormal reaction to stress due to having been subjected to chronic stress seemed to pass down this phenotype to their offspring. Additionally, pathological conditions such as metabolic dysfunctions, cancer and reproductive disorders have been associated with environmental factors. Furthermore, these conditions have been shown to affect subsequent generations.

In summary, the literature examined here demonstrates that environmental factors affect the phenotype of an individual through epigenetic changes, and in some cases even affect future generations. Knowledge in the field of epigenetics could prove important to many fields of human as well as veterinary medicine, but foremost in research areas involving genetic diseases. If incorporated into veterinary medicine, awareness of epigenetic functions could prove important to ensure good animal welfare.



## INLEDNING

Hos en eukaryot organism är uppsättningen DNA identisk i samtliga kroppsceller, men ändå uppstår differentierade celltyper och en variation av vävnader. Förklaringen är att alla gener inte kommer till uttryck i alla celler. Det som styr hur en gen uttrycks har studerats av forskare sedan 70-80-talet bland annat inom området som kallas epigenetik (Pierce, 2017). Till skillnad från genomet skiljer sig *epigenomet* åt mellan olika celltyper vilket resulterar i en fenotypisk variation. Vidare tycks epigenomet vara föränderligt och påverkas av diverse faktorer. Epigenetiken beskrivs som en bro mellan arv och miljö, och syftar till förändringar i genuttryck och fenotyp som potentiellt är ärftliga, utan att förändra den underliggande DNA-sekvensen (karolinska institutet, 2009).

Det har diskuterats kring i hur stor utsträckning epigenetiska effekter består vid celldelning och om det rentav förs vidare till framtida generationer (Richards, 2006). Även i vilken grad reversibla tillstånd i miljön, livsstil och externa stimuli påverkar fenotyp genom epigenetiska mekanismer är omdebatterat (Jablonka, 2017).

De huvudsakliga epigenetiska mekanismer som idag finns kartlagda innefattar DNA-metylering, histonmodifiering och effekter medierade av RNA-molekyler (Goldberg *et al.*, 2007). Genom att studera de *epigenetiska markeringar* de efterlämnar kan information om deras effekt på genuttryck och fenotyp erhållas.

Denna litteraturstudie ämnar granska vad litteraturen idag säger gällande genom vilka molekylära mekanismer epigenetiska förändringar uppkommer, vilken betydelse de har för en individs fenotyp samt i vilken utsträckning de är ärftliga. Vidare granskas även vilken inverkan miljöfaktorer och en individs fysiska tillstånd har på epigenetisk funktion.

## MATERIAL OCH METODER

Litteratur till studien erhöles genom databaserna Primo, Pubmed, Web of Science och Google scholar. Sökord som använts är bland annat (epigenetics), (epigenetic\* inheritance), (DNA-methylation), (histone modification), (epigenetic\* disease animal\*). Review-artiklar har också använts för att finna fler referenser. Dessutom har fackböcker i genetik använts.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Epigenetiska Mekanismer

Epigenetikens inflytande på genuttryck förmedlas genom epigenetiska mekanismer. De mest kända mekanismerna innefattar DNA-metylering, histonmodifiering och effekter medierade av RNA-molekyler. I det här avsnittet presenteras mekanismerna och deras effekt på genuttryck.

#### **DNA-metylering**

DNA-metylering är en av de huvudsakliga epigenetiska mekanismerna involverade i reglering av genuttryck. Metyleringen sker genom addition av en metylgrupp (CH<sub>3</sub>) genom kovalent

inbindning till en nukleotid i DNA-molekylen (Goldberg *et al.*, 2007). Processen katalyseras av enzymer tillhörande gruppen DNA-metyltransferaser. Hos eukaryoter påträffas DNA-metyleringen främst hos kvävebasen cytosins (C) 5'-position, vilket omvandlar den till 5-metylcytosin. Vanligen förekommer metyleringen på cytosinnukleotider som direkt angränsar till guaninnukleotider (G), så kallade CpG-dinukleotider (där p syftar till fosfatgruppen som sammanlänkar C och G) (Pierce, 2017). DNA-sekvenser bestående av många CpG-dinukleotider benämns CpG-öar och utgör vanliga mål för metylering. CpG-öar påträffas vanligen i närheten av promotorsekvenser (Pierce, 2017).

DNA-metylering associeras i många fall med inhibering av gentranskription. Förklaringen är att den adderade metylgruppen orsakar en utskjutning av DNA-helixen, vilket försvårar inbindningen av transkriptionsfaktorer (Pierce, 2017) (Youngson & Morris, 2013). Upptäckten av ett starkt omvänt samband mellan metyleringsgrad och grad av genuttryck stöder också denna teori (Youngson & Morris, 2013).

Metyleringsgraden varierar mellan olika celltyper och har visat sig vara essentiell för celldifferentieringen som sker under däggdjurs embryonala utveckling (Triantaphyllopoulos *et al.*, 2016).

### **Histonmodifiering**

I kärnan hos alla eukaryota celler organiseras DNA:t som tätt packat kromatin. Kromatinet utgörs av DNA stramt lindat runt proteinkomplex, så kallade nukleosomer, som i sin tur är uppbyggda av 8 histonproteiner (Alberts, 2014). Varje histon har en utskjutande aminosyrakedja, även kallad histonsvans, med en positivt laddad N-terminal längst ut. Histonsvansarna utgör mål för epigenetisk modifiering genom kovalent inbindning av en variation av kemiska grupper. Genom metylering, acetylering eller fosforylering påverkas histonernas interaktion med den negativt laddade DNA-molekylen, vilket resulterar i förändring av kromatinets struktur (Youngson & Morris, 2013). På den vägen regleras genuttrycket då kromatinets kondensationsgrad avgör hur enkelt transkriptionsfaktorer kan fästa till DNA:t. Vid hög kondensation är nukleosomerna tätt staplade på varandra och genaktivering blockeras (Aagaard-Tillery *et al.*, 2008).

Tillsatsen av en acetylgrupp till histonens svans (histonacetylering) är associerad med aktivering av genuttryck, då processen generellt leder till att kromatinet antar en mer öppen konfiguration och nukleosomerna hålls på längre avstånd från varandra, vilket innebär enklare tillträde för transkriptionsfaktorer (Pierce, 2017) (Goldberg *et al.*, 2007).

Histonmetylering förändrar också kromatinets struktur men effekten varierar beroende på vilken aminosyra längst ut på histonsvansen som blir metylerad (Pierce, 2017). När tre metylgrupper adderas till lysin 4 i histonen som benämns H3 bildas den epigenetiska markeringen H3K4me3 (K står för lysin). H3K4me3 finns vanligen i närheten av aktiverade gener. Metylering av lysin 36 i H3 (H3K36me3) är också associerat med ökad transkription. Däremot tycks addition av tre metylgrupper till lysin 9 i H3 (H3K9me3) inhibera transkription (Pierce, 2017).

### **RNA-molekylers effekter**

Idag finns det tilltagande bevis för RNA-molekylers betydelse för epigenetiska mekanismer. Små icke kodande RNA-molekyler; non coding RNA (ncRNA), microRNA (miRNA) och small interference RNA (siRNA) medierar regleringen genom *RNA interference* (Pierce, 2017) (Goldberg *et al.*, 2007). Molekylerna aktiverar nedbrytning av mRNA eller inhiberar translation av mRNA till protein. Det bäst beskrivna exemplet på RNA-medierad epigenetisk effekt är X-inaktivering, vilket innebär inaktivering av en av de två X-kromosomer som finns i cellerna hos honliga däggdjur. En lång ncRNA-molekyl, kallad *Xist*, inhiberar transkriptionen av en X-kromosom. *Xist* täcker (coats) en X-kromosom varefter den attraherar ett katalysatorprotein, *PRC2*, som utför histonmodifiering genom att deponera tre metylgrupper på lysin i histon H3 (H3K27me3) och därmed förändra kromatinstrukturen och inhibera transkription (Pierce, 2017). X-inaktivering diskuteras vidare under avsnittet *Epigenetisk nedärvning*.

Ett annat exempel på RNA-medierad epigenetisk effekt involverar paramutation i majs, där siRNA inducerar en epigenetisk förändring hos en allel, vilken i sin tur inducerar förändring i en annan allel som sedan förs vidare till kommande generation (Pierce, 2017). Även paramutation diskuteras vidare i avsnittet *Epigenetisk nedärvning*.

### **Epigenetisk effekt på fenotyp: enäggstvillingar**

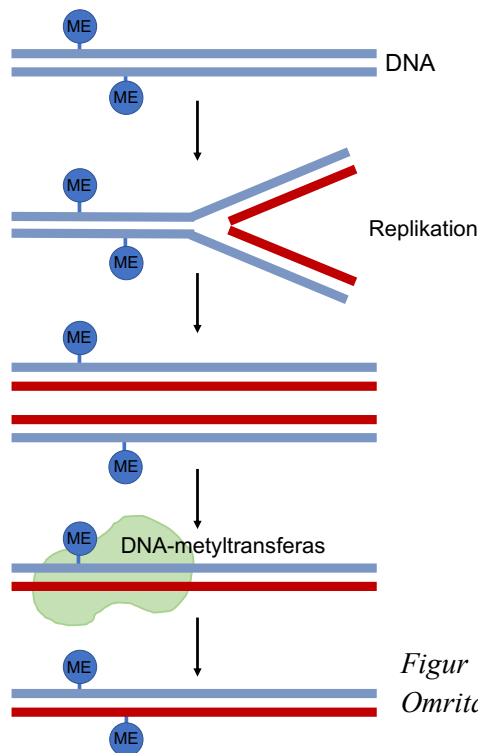
För att mer konkret gestalta vad epigenetiska förändringar får för fenotypisk effekt kan isogena individer, i det här fallet enäggstvillingar, användas. Monozygotiska tvillingar utvecklas från ett gemensamt ägg, befruktat av en enskild spermie, som sedan dividerar och ger upphov till två zygoter (Pierce, 2017). Det innebär att de är genetiskt identiska beträffande DNA-sekvens. Vanligen förekommer ändå fenotypiska skillnader gällande beteende, utseende och hälsa mellan dem, vilket brukar förklaras med miljöskillnader. Bevis har framkommit som tyder på att en del av skillnaderna kan bero på epigenetiska förändringar (Wong *et al.*, 2005). Teorin stöds bland annat av en studie som gjordes på 80 par enäggstvillingar där man jämförde omfattning och lokalisation av DNA-metylering och histonacetylering. Studien av Fraga *et al.*, (2005) fann att DNA-metyleringen och histonacetyleringen var lika mellan tvillingar tidigt i livet men att det förekom markanta epigenetiska skillnader mellan äldre tvillingar. Studien visade också att de epigenetiska förändringarna påverkade genuttrycket hos individerna (Fraga *et al.*, 2005).

### **Epigenetisk nedärvning**

Omfattningen av epigenetisk överföring vid celldelning samt över generationsgränser är omdiskuterad. Ändå växer underlaget för hur epigenetisk nedärvning går till. I det här avsnittet beskrivs mekanismerna för överföringen, inledningsvis vid mitos; celldelning i en enskild individ där epigenetiska markeringar överförs till dottercellerna. Därefter beskrivs transgenerationell epigenetisk nedärvning; överföring till framtida generationer under meios och gametogenes.

### Mitotisk överföring

DNA-metylering av CpG-dinukleotider resulterar i att två metylerade cytosinbaser sitter diagonalt från varandra på motsatta DNA-strängar (då C basparar med G). När DNA:t replikeras bildas två nya dubbelsträngade DNA-molekyler, båda uppbyggda av en originalsträng tillsammans med en nybildad sträng. Cytosinbasen på den nybildade strängen är i det här stadiet inte metylerad. Emellertid känns det semimetylerade tillståndet igen av DNA-metyltransferaser som därför metylerar den nytillverkade strängen (Skinner, 2011). Som resultat bibehålls metyleringsförändringen vid DNA-replikation (Skinner, 2011).



Figur 1: DNA-metylering bibehålls vid DNA-replikation. Omritad med inspiration från Pierce (2017).

### X-inaktivering

Den tidigare nämnda inaktiveringen av en X-kromosom är ett annat exempel på en RNA-medierad epigenetisk förändring som förs vidare under mitos. Tidigt i utvecklingen av honliga däggdjur inaktiveras en X-kromosom slumpmässigt i varje cell. ncRNA-molekylen *Xist* täcker en X-kromosom varefter den attraherar katalysatorproteinet *PRC2*, vilket i sin tur deponerar tre metylgrupper på lysin i histon H3 (H3K27me3) och därmed förändrar kromatinstrukturen och inhiberar transkription (Pierce, 2017). Markeringen H3K27me3 replikeras under mitos, vilket leder till att samma X-kromosom som slumpmässigt blev utvald till att inaktiveras tidigt under utvecklingen fortsätter inaktiveras i dottercellerna (Pierce, 2017).

### Transgenerationell nedärvning

Epigenetisk nedärvning syftar till överföringen av fenotypisk variation till efterföljande generation som inte härstammar från variation i DNA-sekvens (Jablonka, 2017). Fastän det har visat sig att epigenetiska förändringar till stor del raderas vid bildandet av könsceller, har det upptäckts fall där informationen har visat sig vara ärftlig (Skinner *et al.*, 2010; Richards, 2006). För att epigenetiska förändringar ska föras vidare till avkomman krävs att förändringarna sker i könscellerna (Jablonka *et al.*, 1992). Meiotisk nedärvning sker inte enbart direkt under DNA-

replikation likt de nämnda exempel på mitotisk överföring, utan också genom andra mekanismer (Perez & Lehner, 2019; Jablonka, 2017). Jablonka (2017) presenterar studier som visar att epigenetiskt medierade kromatinförändringar kan initiera en självbevarande "loop". Kromatinförändringen, till exempel ett specifikt metyleringsmönster, kan i sig generera ett protein eller en RNA-produkt som är delaktig i själva uppehållandet av den aktuella kromatinstrukturen. Denna genprodukt finns då kvar även om kromatinförändringen raderas vid celledelning, vilket till exempel är fallet med DNA-metylering hos spermiegameter (Perez & Lehner, 2019). Genprodukten kan då inducera rekonstruktion av den epigenetiska markeringen (kromatinstrukturen) efter den meiotiska celledelningen, till exempel i embryon efter raderingen av DNA-metyleringen hos spermiegameter (Jablonka, 2017). Likväl menar Jablonka (2017) att upp till 20% av epigenetiska markeringar bevaras vid meiotisk replikation, vilket kan leda till rekonstruktion av hela markeringar under den embryonala utvecklingen.

### *Genetisk prägling*

Ett exempel på transgenerationell nedärvning är fenomenet *genetisk prägling* (Surani, 1998). Diploida organismer har två alleler vid varje lokus, en ärvd från modern och en ärvd från fadern (Pierce, 2017). Vanligtvis uttrycks båda alleler och vad den fenotypiska effekten av en specifik allel blir är oberoende från vilken förälder allelen ärvs ifrån. Det finns dock en del gener där könet hos föräldern som bidrog med en specifik allel har visat sig ha betydelse för hur allelen kommer uttryckas hos avkomman (Surani, 1998). Det kan till exempel vara så att om allelen är ärvd från fadern uttrycks den, men om samma allel är ärvd från modern förblir den tyst. Även omvänt förhållande förekommer. Fenomenet tycks ha epigenetisk koppling, då det har upptäckts att DNA-metyleringsgraden hos en allel kan skilja sig åt mellan honor och hanar, vilket som tidigare beskrivits påverkar genuttrycket (Surani, 1998). Ett exempel på genetisk prägling är resultatet av att korsa hästar med åsnor. Avkomman från ett häststo och en åsnehingst kallas mula, medan avkomman från ett åsnebo och en hästhingst kallas mulåna. Detta eftersom fenotyperna mellan avkommorna skiljer sig åt gällande utseende, fysiologi och beteende. Mulor och mulåsnor är till lika delar häst och åsna, det enda som skiljer dem åt är från vilket kön allelerna har ärvts. Skillnaderna förklaras av genetisk prägling då jämförande studier utförda på avkommorna har visat att uttrycket av somliga gener skiljer sig åt mellan dem (Hunter, 2007).

### *Paramutation*

Ytterligare ett exempel på hur epigenetisk information kan bestå över generationsgränser är det tidigare nämnda fenomenet paramutation. Begreppet definieras som en interaktion mellan två alleler som leder till en ärftlig förändring i genuttryck av en allel (Pierce, 2017). I exemplet med paramutation i majs förmedlas den epigenetiska förändringen av siRNA. Redan på 50-talet beskrev Brink (1959) paramutationen i majs. Han studerade ett lokus, *r1*, involverad i pigmenteringen av majs-kornen. Om allelen *R'* förekommer i lokuset leder det vanligtvis till lila majs-korn. Allelen *R<sup>st</sup>* i lokuset kodar istället för fläckig pigmentering. Heterozygoti för lokuset, när *R'* och *R<sup>st</sup>* förekommer tillsammans, visar sig dock leda till att *R<sup>st</sup>* permanent förändrar uttrycket av *R'* som också börjar koda för fläckiga majs-korn istället (Brink, 1959). Den förändrade *R'*-allelen fortsätter koda för fläckig pigmentering i flera efterkommande generationer, även när *R<sup>st</sup>* inte finns närvarande.

## Miljöns inflytande

### **DNA-metylering hos honungsbin**

Miljöfaktorer kan ha bestående fenotypiska effekter på till exempel utseende och beteende hos en individ. Forskare finner allt mer bevisning för att många av dessa effekter förmedlas av epigenetiska mekanismer. Ett exempel som stöder teorin har upptäckts hos honungsbin, där deras fenotypiska variation har visat sig bero på skillnader i epigenomet snarare än genomet (Foret *et al.*, 2012). Både bidrottningar och arbetsbin är honor. Bidrottningar är stora till växten och har fullt utvecklade äggstockar, medan arbetsbina är små och infertila. Bidrottningars huvudsakliga mål är att fortplanta sig, medan arbetsbins uppgifter innefattar insamling av nektar och pollen samt omhändertagande av drottningen och hennes avkomma. Fastän de två bityperna fenotypiskt skiljer sig åt gällande utseende och beteende utvecklas de från samma typ av ägg, och är genetiskt lika (Foret *et al.*, 2012). Under uppfödningen av larverna ger arbetsbina en utvald del av de honliga larverna föda i form av bidrottningsgelé, vilket leder till att de utvecklas till drottningar. Övriga larver ges vanlig föda och utvecklas därmed till arbetsbin. Den fenotypiska skillnaden har visat sig bero på dietens påverkan på genuttrycket (Foret *et al.*, 2012). Bidrottningsgelén har visat sig leda till inhibering av en gen som benämns *Dnmt3*, vilken vanligen producerar ett DNA-metyltransferas. Inhibering av *Dnmt3* leder till lägre grad av DNA-metylering i genomet, vilket i sin tur leder till att många gener som hos arbetsbin är inaktiva, uttrycks hos bidrottningar. Teorin testades genom att RNA-molekyler som specifikt inhiberar *Dnmt3* injicerades i utvalda larver. De injicerade larverna uppvisade lägre grad av DNA-metylering och många utvecklades till drottningar med fullt fungerande äggstockar (Foret *et al.*, 2012).

### **Miljöns inflytande på epigenetisk nedärvning**

Hittills har mekanismerna för epigenetisk genreglering, överföring av epigenetisk information samt ett exempel på miljöns effekt beskrivits. För att gestalta sambandet mellan samtliga delar kan stressforskning utförd på råttor och möss användas.

Hur begreppet *stress* ska definieras är inom forskningsvärlden omdiskuterat och anses komplicerat att mäta rent vetenskapligt. Oavsett hur begreppet avgränsas råder det generell överenskommelse att utmanande (stressiga) situationer är associerade med ökade nivåer av cirkulerande kortikosteroider, främst kortisol (Sapolsky *et al.*, 2000). Kortikosteroider passerar cellmembran genom passiv transport och binder till, i kortisols fall, glukokortikoidreceptorer (GRs) i cytoplasman. Därefter transporteras glukokortikoid-receptor-komplexen till kärnan där de agerar som transkriptionsfaktorer genom att binda in till specifika DNA-sekvenser. Komplexen påverkar därmed genuttrycket nedströms från inbindningssekvensen (Sapolsky *et al.*, 2000). GR-inbindningssekvenser är vanliga i hela genomet, vilket förklarar det stora inflytande stress har på genuttryck (Jensen, 2014). Enligt Jensen (2014) öppnar det här upp för möjligheten att kortikosteroider kan orsaka långvariga förändringar av genuttryck, till exempel genom att förändra metyleringsstatusen på promotor-regioner. Fastän de exakta mekanismerna ännu inte är helt kartlagda framkommer allt mer bevis för att stress-systemet är involverat i bestående epigenetisk variation (Jensen, 2014). Stöd för teorin kan redovisas genom en studie utförd på råttmödrar och råttungar under digivningstiden. Det fastställdes att råttmödrar kan kategoriseras som antingen mycket omsorgsfulla (high caring) eller lite omsorgsfulla (low

caring) mot sin avkomma. Indelningen baserades på graden av omhändertagande de utförde i form av bland annat slickning, putsning och digivning med böjd rygg (licking, grooming, arched-back nursing) (Weaver *et al.*, 2004). Studien visade att moderns beteende påverkade DNA-metyleringsgraden i hjärnan hos avkomman, vilket i sin tur hade inflytande på graden av histonacetylering och inbindning av transkriptionsfaktorn *NGFI-A* (nerve growth factor-inducible protein A) till GR (Jensen, 2014). Förändringarna visade sig kvarstå när råttorna nådde vuxen ålder och påverkade hur de reagerade på stress. Individer vars mödrar uttryckt ett mer omhändertagande beteende uppvisade en mindre ökning av kortikosteroider när de utsattes för stress i vuxen ålder. Dessutom visades att inhiberingen av inbindningen av *NGFI-A* var uppstarten till händelseförloppet som slutligen resulterade i den fenotypiska effekten (Jensen, 2014). Enligt Pierce (2017) utfördes en rad experiment för att bevisa att det var just den förändrade kromatinstrukturen som orsakade den specifika responsen på stress hos de vuxna råttorna (Pierce, 2017). Råttungar injicerades med en deacetylerings-inhibitor, vilken förhindrar borttagning av acetylgrupper från histonproteiner. Försöket resulterade i att DNA-metyleringen och histonacetyleringen associerat med moderns beteende försvann, liksom effekterna på stressrespons de vuxna råttorna uttryckte (Pierce, 2017).

En intressant fråga är huruvida epigenetiska förändringar orsakade av stress kan ärvas av avkomman. Ett exempel beskrivet av Pierce (2017) visar att effekter av stressiga situationer också kan förmedlas av RNA-molekyler. I studierna utsattes hanliga möss för kronisk stress i form av rörelserestriktion, rovdjursdoft eller oljud. Efter exponeringen parades de med honor som inte exponerats för stress. När avkomman utsattes för stress i form av rörelserestriktion uppvisade de en avtrubbad hormonell respons (Pierce, 2017). Genuttrycket av somliga gener involverade i stressrespons visade sig vara förändrat. Vidare upptäcktes ökade nivåer av nio miRNA-molekyler i de stressade fädernas sperma, vilka tros förmedla den avtrubbade reaktionen på stress hos avkomman. För att testa hypotesen injicerades musembryon, vars föräldrar inte exponerats för kronisk stress, med kopior av de specifika miRNA-molekylerna. Därefter implanterades embryona i surrogatmödrar. När mössen växte upp uppvisade de samma typ av avtrubbade hormonella respons på stress som avkomman till de stressade fäderna, även om deras föräldrar inte exponerats för stress (Pierce, 2017). Lämpliga kontrollförsök utfördes för att försäkra att den observerade effekten inte berodde på injektionsproceduren.

### **Sjukdomar**

Förutom stress har miljöfaktorer som till exempel diet och exponering för kemikalier associerats med en variation av fenotypiska effekter hos både djur och människor. En del effekter har associerats med sjukdomsutveckling.

Genom studier på möss upptäcktes att fetma orsakad av ohälsosam diet kan få effekter på metabolismens funktion för flera generationer framåt (Youngson & Morris, 2013; Eaton *et al.*, 2018). Studien av Eaton *et al.*, (2018) visade att moderlig fetma och/eller diabetes, främst under graviditeten, resulterar i att avkomman löper större risk att utveckla metaboliska störningar. Mus-sönerna till de överviktiga mödrarna i studien uppvisade en predisposition för insulinresistens, vilket kan leda till utveckling av diabetes. Dock förblev fenotypen latent under normal kosthållning, även om den molekylära markeringen som förmedlade fenotypen

påvisades bestå hos avkomman. Förändringen påvisades i tre efterföljande generationer (Eaton *et al.*, 2018).

Ett exempel på kemikaliers effekter på epigenetisk medierad sjukdomsutveckling är DNA-metylerings involvering i utvecklingen av cancer. Åtskilliga typer av cancer uppvisar ett onormalt metyleringsmönster i form av hypermetylerade CpG-öar i promotorregioner till tumörsuppressorgener (Esteller, 2008). Exponering av cancerframkallande kemikalier tros orsaka denna förändring. Ett annat exempel är den endokrinstörande kemikalien vinclozolin som används som fungicid. Råttor som exponerades för ämnet utvecklade symtom i form av lägre fertilitet hos hanar och graviditetsstörningar samt ökad risk för tumörer hos honor (Nilsson *et al.*, 2008). Effekterna visade sig föras vidare till flera efterföljande generationer trots att exponeringen upphört.

## DISKUSSION

En stor mängd publikationer enas om epigenetikens inflytande på genuttryck. Samtliga mekanismer verkar genom modifiering av kromatinstrukturen och har associerats med effekt på fenotyp. Flertalet studier, bland annat den av Triantaphyllopoulos *et al.* (2016) påpekar också DNA-metyleringens betydelse för celldifferentiering under den embryonala utvecklingen hos däggdjur. Kunskap om epigenomets funktion kan därför bidra till förståelse för utvecklingen från stamceller med identiskt DNA till högt specialiserade celler och vävnader. Resultatet från studien av Fraga *et al.*, (2005) på enäggstvillingar visar att en del av de fenotypiska skillnader som förekommer mellan isogena individer kan bero på epigenetiskt medierade skillnader i genuttryck. Även studien utförd på honungsbin presenterar evidens för sambandet mellan epigenetisk modifiering och fenotypisk effekt då epigenetisk reglering av en specifik gen (*Dnmt3*) kunde associeras med en specifik fenotyp (utveckling till bidrottning alternativt arbetsbi) (Foret *et al.*, 2012).

Underlaget av litteratur som berör ärftligheten av epigenetiska förändringar växer. DNA-metylering och X-inaktivering är exempel på modifieringar som visat sig överföras till dottercellerna vid mitotisk celledelning. Även stöd för transgenerationell nedärvning presenterats i den här litteraturstudien. Litteratursammanställningen antyder att en del epigenetiska förändringar består vid meios och därför förs vidare till efterkommande generationer. Överföringen sker inte enbart genom klassisk replikation där metyleringsmönster återskapas i samband med DNA-replikation, utan också genom självbevarande system, samt paramutation av alleler (Brink, 1959; Surani, 1998; Jablonka, 2017; Perez & Lehner, 2019).

Det är känt sedan länge att faktorer som livserfarenheter, diet och kemikalieexponering påverkar en individs beteende, utseende och hälsotillstånd. I litteraturöversikten beskrivs hur en del fenotypiska effekter förmedlas genom epigenetiska mekanismer. Studien utförd på honungsbin visade att diet i form av bidrottninggelé på epigenetisk väg inhiberade en gen som påverkade fenotypen (Foret *et al.*, 2012). Även försöken relaterade till stress utförda på råttor och möss indikerar att miljö kan ha bestående effekt på epigenomet. Dessutom har det visat sig



att sjukdomsframkallande kemikalier i vissa fall förmedlar sin effekt genom epigenetiska mekanismer, som i fallet med vinclozolin till exempel (Esteller, 2008; Nilsson *et al.*).

Ett begrepp som kan vara intressant att diskutera utöver miljöns påverkan på fenotyp är *Epigenetisk drift*. Fraga *et al.*, (2005) menar att möjligheten finns att ackumulation av små slumpmässiga defekter som uppkommer vid överföring av epigenetisk information vid mitos kan leda till fenotypiska skillnader mellan isogena individer. Teorin innebär alltså att fenotypiska skillnader mellan enäggstvillingar inte enbart kan tillfalla skillnader i miljöfaktorer, utan även delvis kan förklaras av slumpmässiga epigenetiska mutationer. Ackumulering av epigenetiska defekter kan tänkas ske hastigare än motsvarande fenomen vid överföring av DNA eftersom epigenomets funktion inte är lika starkt kopplat till dramatiska effekter för en individs överlevnad. Dessutom finns det inte lika välutformade kontrollsystem för epigenetisk replikation som för överföring av DNA (Fraga *et al.*, 2005).

Vidare är det omdiskuterat huruvida bevarandet av epigenetisk förmedlad fenotyp över generationsgränser helt kan förklaras genom nedärvning av epigenomet. När det gäller Eatons exempel med fetma kan det argumenteras att effekten på metabolismen i efterkommande generationer endast uppkommer om miljön tillåter det (Eaton *et al.*, 2018). Om efterkommande generationer höll en hälsosammare diet uteblev den fenotypiska effekten. Värt att notera är dock att den epigenetiska markeringen bestod (Eaton *et al.*, 2018). Dessutom indikerar de stressrelaterade försök på möss som beskrivs i litteraturöversikten att överförda epigenetiska markeringar kan få fenotypisk effekt i efterföljande generationer även när miljöfaktorn uteblir. Musungarna som blivit injicerade med miRNA uppvisade samma förändrade stressrespons som avkomman till de stressade fäderna, även om deras föräldrar inte exponerats för stress. Även exemplet med råttor som utsattes för vinclozolin antyder att fenotypiska effekter kan bestå till kommande generationer även när exponeringen upphör.

Epigenetik kan anses en viktig del i förståelsen för hur faktorer utanför DNA påverkar fenotyp. Insikterna kan leda till viktiga framsteg inom humanmedicin så väl som veterinärmedicin. Det hade varit intressant att vidare utforska hur kunskap om epigenetiska mekanismer kan tillämpas inom djurvälzfården. De studier som beskrivs i den här litteraturstudien är till stor del utförda på djur som försöksmodell, och kan därför bidra till trovärdig och värdefull information till flertalet grenar inom djurvälzfårdsområdet. Ämnet kanske främst har betydelse för behandling av specifika genetiska sjukdomar som drabbar våra husdjur, men också för områden inom beteendevetenskap, toxikologi och husdjursavel för att nämna några exempel.

Sammanfattningsvis kan slutsatsen dras att en stor mängd forskning indikerar att miljöfaktorer på epigenetisk väg kan förändra genuttryck och därigenom fenotyp. Utöver effekterna på fenotyp hos den enskilde individen pekar mycket på att en del epigenetisk information kan överföras till efterföljande generationer. Genom att inkorporera kunskap om epigenetikens mekanismer i veterinärmedicin och husdjursvetenskap kan god djurvälstånd uppnås, samtidigt som husdjursavel på oönskade fenotyper kan undvikas.

## LITTERATURFÖRTECKNING

Aagaard-Tillery, K. M., Grove, K., Bishop, J., Ke, X., Fu, Q., McKnight, R. & Lane, R. H. (2008). Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *Journal of Molecular Endocrinology*, 41(2), pp 91–102.

Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2014). *Essential Cell Biology*. 4. uppl. New York: Garland Science Taylor & Francis Group.

Brink, R. A. (1959). Paramutation at the R Locus in Maize Plants Trisomic for Chromosome 10. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 45(6), pp 819–827.

Eaton, S. A., Aiken, A. J., Young, P. E., Ho, J. W. K., Cropley, J. E. & Suter, C. M. (2018). Maternal obesity heritably perturbs offspring metabolism for three generations without serial programming. *International Journal of Obesity*, 42(4), pp 911–914.

Esteller, M. (2008). Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(11), pp 1148–1159.

Foret, S., Kucharski, R., Pellegrini, M., Feng, S., Jacobsen, S. E., Robinson, G. E. & Maleszka, R. (2012). DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing, and alternative phenotypes in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(13), pp 4968–4973.

Fraga, M. F., Ballestar, E., Paz, M. F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M. L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J. C., Urioste, M., Benitez, J., Boix-Chornet, M., Sanchez-Aguilera, A., Ling, C., Carlsson, E., Poulsen, P., Vaag, A., Stephan, Z., Spector, T. D., Wu, Y.-Z., Plass, C., Esteller, M. & Gartler, S. M. (2005). Epigenetic Differences Arise during the Lifetime of Monozygotic Twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(30), pp 10604–10609.

Goldberg, A. D., Allis, C. D. & Bernstein, E. (2007). Epigenetics: A Landscape Takes Shape. *Cell*, 128(4), pp 635–638.

Hunter, P. (2007). The silence of genes. Is genomic imprinting the software of evolution or just a battleground for gender conflict? *EMBO Reports*, 8(5), pp 441–443.

Jablonka, E. (2017). The evolutionary implications of epigenetic inheritance. *Interface Focus* [online], 7(5). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5566804/>. [Accessed 2019-02-12].

Jablonka, E., Lachmann, M. & Lamb, M. J. (1992). Evidence, mechanisms and models for the inheritance of acquired characters. *Journal of Theoretical Biology*, 158(2), pp 245–268.

Jensen, P. (2014). Behaviour epigenetics – The connection between environment, stress and

welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 157, pp 1–7.

Karolinska Institutet (2015-01-30). *Epigenetik – en bro mellan arv och miljö*. <https://ki.se/forskning/epigenetik-en-bro-mellan-arv-och-miljo> [2019-02-26]

Nilsson, E. E., Anway, M. D., Stanfield, J. & Skinner, M. K. (2008). Transgenerational epigenetic effects of the endocrine disruptor vinclozolin on pregnancies and female adult onset disease. *Reproduction*, 135(5), pp 713–721.

Perez, M. F. & Lehner, B. (2019). Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Nature Cell Biology*, 21(2), p 143.

Pierce, B. A. (2017). *Genetics A Conceptual Approach*. 6. uppl. New York: W.H Freeman and Company. ISBN 978-1-319-05096-2.

Richards, E. J. (2006). Inherited epigenetic variation — revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics*, 7(5), pp 395–401.

Sapolsky, R. M., Romero, L. M. & Munck, A. U. (2000). How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews*, 21(1), pp 55–89.

Skinner, M. K. (2011). Environmental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability. *Epigenetics*, 6(7), pp 838–842.

Skinner, M. K., Manikkam, M. & Guerrero-Bosagna, C. (2010). Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21(4), pp 214–222.

Surani, M. A. (1998). Imprinting and the Initiation of Gene Silencing in the Germ Line. *Cell*, 93(3), pp 309–312.

Triantaphyllopoulos, K. A., Ikonomopoulos, I. & Bannister, A. J. (2016). Epigenetics and inheritance of phenotype variation in livestock. *Epigenetics & Chromatin*, 9(1), p 31.

Weaver, I. C. G., Cervoni, N., Champagne, F. A., D’Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., Dymov, S., Szyf, M. & Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, 7(8), pp 847–854.

Wong, A. H. C., Gottesman, I. I. & Petronis, A. (2005). Phenotypic differences in genetically identical organisms: the epigenetic perspective. *Human Molecular Genetics*, 14(suppl\_1), pp R11–R18.

Youngson, N. A. & Morris, M. J. (2013). What obesity research tells us about epigenetic mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online], 368(1609). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3539363/>. [Accessed 2019-02-18].