

УДК 636.082.12

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗВИТИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ПРИМЕРЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ДРУГИХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ. I. ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ И ПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОДЫ

© 2022 г. Е. В. Солоднева<sup>1</sup> \*, С. Б. Кузнецов<sup>1</sup>, А. Е. Велиева<sup>2</sup>, Ю. А. Столповский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

<sup>2</sup>Пенсильванский университет, Школа инженерии и прикладных наук, Филадельфия, Пенсильвания, 19104 США

\*e-mail: eugenia.575.2012@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.03.2022 г.

После доработки 29.03.2022 г.

Принята к публикации 31.03.2022 г.

Растущий спрос общества на продукцию сельскохозяйственных животных обуславливает необходимость постоянной модернизации селекционных программ. В целях повышения точности геномной оценки племенной ценности в последнее время используются модели, позволяющие учитывать информацию о вкладе конкретных полиморфных локусов в формирование интересующих хозяйственно полезных признаков. Учет функциональной роли генов, ответственных за формирование молочной железы, важен для повышения достоверности прогноза молочной продуктивности. В настоящем обзоре описаны молекулярно-генетические основы развития молочной железы на эмбриональном, препубертатном и пубертатном этапах развития на примере крупного рогатого скота и некоторых других млекопитающих. Особое внимание в работе уделено эпигенетической регуляции. Приведены данные по генетике, морфофизиологии, эндокринологии и влиянию микроорганизмов на разных этапах развития молочной железы.

**Ключевые слова:** КРС, молочная железа, геномная селекция, эпигенетическая регуляция, морфогенез, аборигенные породы.

**DOI:** 10.31857/S0016675822080082

По предварительным оценкам ФАО в 2021 г. мировое производство молока достигло 9281 млн т [1], что на 2341 млн т выше показателей 2008 г. [2]. Молочная индустрия показывает впечатляющие результаты в повышении продуктивности крупного рогатого скота. Направленный отбор с учетом генетико-селекционных данных, улучшение кормов и условий содержания, эффективный менеджмент, все это способствовало наблюдаемому росту продукции. Однако спрос на молочные продукты не перестает расти, что обуславливает необходимость постоянной модернизации программ геномной селекции и содержания животных. Особую актуальность приобретает совершенствование стратегии разведения аборигенных пород крупного рогатого скота, ведь сохранение биоразнообразия является не менее важной задачей современного животноводства. Выведение геномной оценки племенной ценности (ГЕВ) у малочисленных пород имеет важную особенность — эталонная группа представлена лимитированным количеством особей, что сказывается на достоверности прогноза [3, 4]. При этом использование рефе-

ренсной выборки международных трансграничных пород крупного рогатого скота для оценки генетического потенциала местных пород в большинстве случаев не представляется возможным. Так, по имеющимся данным в межпородном прогнозе потенциала молочного скота наблюдается низкая точность геномной оценки племенной ценности [5]. В целях повышения точности выведения геномных индексов в последнее время используются модели (GFBLUP, BayesRCO), позволяющие учитывать информацию о вкладе конкретных полиморфных локусов в формирование интересующих хозяйственно полезных признаков [6, 7]. Учет функциональной роли генов, ответственных за формирование молочной железы, важен для повышения достоверности прогноза молочной продуктивности.

Процесс выработки молока, и как следствие молочная продуктивность, во многом зависит от развитости молочной железы. Хорошо сформированная железа с развитой структурой протоков, с обилием секреторных клеток, хорошим кровоснабжением и прочной соединительной тканью

будет долгое время сохранять высокую продуктивность [8]. В течение жизни самок млекопитающих их молочные железы претерпевают ряд морфологических преобразований, состоящих из шести основных периодов: внутриутробного, препубертатного, пубертатного, беременности, лактации и инволюции [9]. Каждый из этих периодов проходит под строгим контролем множества взаимосвязанных каскадов генов и их регуляторных элементов, находясь под влиянием самых разных факторов среды. Лучшее понимание механизмов взаимодействия участников морфогенеза молочной железы позволит точнее определить вклад конкретных молекул, что в свою очередь будет способствовать повышению эффективности программ геномной селекции и программ сохранения биоразнообразия.

В последнее время также обсуждается возможность учета данных эпигенетики для геномной селекции крупного рогатого скота [10]. Изменения генома, обусловленные мутациями, не могут объяснить всей фенотипической изменчивости признаков. Результаты тематических исследований свидетельствуют о существенном вкладе эпигенетической регуляции в этиологию болезней и формирование продуктивных признаков сельскохозяйственных животных [11]. Для учета эпигенетического вклада при оценке племенной ценности животных требуется подбор стабильных маркеров. Подобные стабильные эпигенетические маркеры уже предложены в качестве прогностических инструментов для некоторых фенотипических признаков у человека [12]. Профилирование эпигенетических меток в тканях крупного рогатого скота позволяет уже сейчас выявлять глобальные и тканеспецифические модели метилирования [13, 14]. В целях повышения эффективности поиска эпигенетических меток в последнее время широко используют алгоритмы машинного обучения [15]. Объединяя данные об эпигенетических регуляторах и уровнях экспрессии генов конкретной ткани, можно в какой-то мере автоматизировать процесс предсказания возможных физиологических состояний и диагнозов, в том числе у крупного рогатого скота [16]. Развитие технологий, позволяющих манипулировать конкретными эпигенетическими регуляторами, например основанные на системе CRISPR-Cas9, может предоставить мощные инструменты контроля генной экспрессии, включая гены, ответственные за развитие молочной железы [11, 17].

Возможности современной науки позволяют исследователям со всего мира активно пополнять базу знаний о молекулярно-генетических факторах развития молочной железы млекопитающих. Все больше участников самых разных генных каскадов, определяющих это развитие, становятся доступны для дальнейшего исследования. Отдельного внимания заслуживают данные о влия-

нии внешних факторов на раскрытие генетического потенциала животных.

Цель настоящего обзора – описание молекулярных основ формирования молочной железы на эмбриональном, препубертатном и пубертатном этапах развития на примере крупного рогатого скота и некоторых других млекопитающих. Особое внимание уделено эпигенетической регуляции как фактору развития молочной железы в целом, так и отдельно для каждого периода. Также приведены данные по генетике, морфофизиологии, эндокринологии и влиянию микроорганизмов.

## УЧАСТНИКИ РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

### *Гормоны, факторы роста и их рецепторы*

Каждая фаза лактационного цикла, среди которых маммогенез, лактогенез, галактопоз и инволюцию, проходит под строгим контролем со стороны эндокринной системы. Выделяют три основные группы гормонов:

1) половые, действующие непосредственно на молочную железу: окситоцин, прогестерон, эстроген, плацентарный лактоген и пролактин;

2) метаболические, контролирующие многие физиологические и метаболические процессы в организме: гормон роста, инсулин, кортикостероиды, гормоны желудочно-кишечного тракта и гормоны щитовидной железы;

3) местные: паратиреоидный гормон-родственный белок, гормон роста, лептин и пролактин [18].

Стероидные и пептидные гормоны участвуют в регуляции морфогенеза и ремоделировании молочных желез, контролируя экспрессию генов и эпигенетические изменения [19].

Некоторые гормоны и факторы роста участвуют в транспорте компонентов молока (пептид, родственный паратиреоидному гормону) [20], оказывают влияние на кровоток (вазопрессин, адреналин и норадреналин, ангиотензин II), а также играют важную роль в развитии системы кровеносных сосудов [21]. Кроме этого, гормоны могут влиять на синтез и секрецию друг друга. Действуя на гипофиз, эстрогены стимулируют синтез и секрецию пролактина [22]. Пролактин контролирует лютеиновое тело и, как следствие, синтез прогестерона [23]. Также пролактин регулирует экспрессию рецептора эстрогена альфа [24].

### *Эпигенетические регуляторы*

Химические модификации хроматина или транскрибируемой ДНК, влияющие на генную экспрессию без изменения самой последовательности ДНК, являются предметом изучения эпигенетики [25]. В последние годы объем данных по

теме эпигенетической регуляции различных физиологических процессов, включая развитие молочной железы, продолжает расти. Определение роли конкретных регуляторных молекул помогает лучше понять особенности их взаимодействия с другими участниками сигнального каскада. Вместе с тем расширяется зона их возможного влияния, растет количество потенциальных мишеней, открываются новые уровни регуляции. В данном разделе рассмотрены три основных этапа эпигенетической регуляции: метилирование ДНК, модификация гистонов и влияние некодирующих РНК, применительно к этапам развития и функционирования молочной железы.

### *Метилирование ДНК*

Метилирование ДНК – процесс присоединения метильной группы к углероду цитозина в положении 5, опосредованный ДНК-метилтрансферазами и ДНК-деметилазами [26]. Метилирование CpG-островка (цитозин и гуанин, соединенные через фосфатную группу) в зоне промотора может блокировать экспрессию гена [27], тогда как метилирование экзон-интронной области может способствовать активации транскрипции [28]. По оценкам некоторых авторов метилирование ДНК опосредованно влияет на пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток молочной железы, образование терминальных протоковых единиц (TDE), удлинение протоков, развитие дольчато-альвеолярных структур и жировой подушечки. Также отмечено влияние данной эпигенетической модификации на показатели лактации [29]. В ответ на факторы внешней среды профили метилирования ДНК изменяются, влияя на профили экспрессии генов [30, 31]. Данные по метилированию ДНК у крупного рогатого скота недавно были обобщены в работе Халушковой и соавт. [32].

### *Модификации гистонов*

Динамические модификации гистонов, в частности метилирование, ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинирование и сумоилирование, могут регулировать экспрессию генов [33], влиять на структуру хроматина, участвовать в привлечении активаторов и супрессоров транскрипции [34]. Ремоделирование хроматина может быть опосредовано белками группы polycomb (PcG) – эпигенетические сайленсеры, участвующими в поддержании клеточной идентичности [35]. Присоединение и удаление ацетильной группы находятся под контролем, в том числе, гистоновых ацетилтрансфераз (HAT) и гистоновых деацетилаз (HDAC) соответственно. В этой связи особую актуальность приобретают исследования, посвященные поиску ингибиторов активности гистоновых ацетилтрансфераз и гистоновых де-

ацетилаз. В работе Сильвы и соавт. [36] дается оценка роли пропионата натрия и бутирата натрия как HDAC-зависимых регуляторов экспрессии воспалительных генов в эпителии молочной железы коров.

### *Некодирующие РНК*

Некодирующие РНК, в числе которых микроРНК (miRNA), длинная некодирующая РНК (lncRNA), кольцевая (circRNA), малая интерферирующая РНК (siRNA), PIWI-взаимодействующая РНК (piRNA), малая ядрышковая РНК (snoRNA), представляют собой группу нетранслируемых молекул РНК, влияющих на экспрессию генов. Таким образом, они контролируют многие сигнальные пути, участвуя в самых разных биологических процессах, включая развитие молочной железы крупного рогатого скота [37, 38].

МикроРНК представляют собой небольшие последовательности около 21–24 нуклеотидов в длину [39]. Многие микроРНК являются высоко консервативными, что указывает на важность выполняемых ими функций [39]. Мишенью микроРНК часто становятся матричные РНК, связывание с которыми обуславливает репрессию трансляции [40]. По разным оценкам микроРНК могут контролировать активность от 30 [41] до 60% [42] всех генов. Известно также о взаимном регулировании микроРНК и гормонов. Так, пролактин может ингибировать экспрессию miR-183 [43], в то время как bta-miR-15a косвенно снижает секрецию молока путем блокирования экспрессии рецептора гормона роста [44]. Являясь важным галактопоэтическим гормоном, соматотропин запускает экспрессию казеина [45]. При изучении роли miR-29 в клетках молочной железы коров было установлено [46], что ингибирование данной молекулы вызывает глобальное гиперметилирование ДНК и снижает секрецию лактопротеина, триглицеридов (ТГ) и лактозы. Также авторы сообщают, что подавление miR-29 приводит к увеличению уровней метилирования промоторов генов, связанных с лактацией, в числе которых: *CSN1S1*, *EIF5*, *PPARγ*, *SREBP1*, *GLUT1*. В этой же работе предложен возможный механизм регуляции, из которого следует, что miR-29 контролирует уровень метилирования ДНК путем обратного нацеливания на DNMT3A и DNMT3B.

Участие микроРНК в регулировании функций молочных желез было определено путем выявления различий в профилях экспрессии этих молекул в зависимости от стадии лактации, режима питания и присутствия патогенов. Так, сравнивая паттерны экспрессии микроРНК в молочной железе крупного рогатого скота на разных стадиях лактации, авторы исследования [47] выявили 12 микроРНК с пониженной регуляцией (miR-10a, miR-15b, miR-16, miR-21, miR-33b, miR-145,

miR-146b, miR-155, miR-181a, miR-205, miR-221 и miR-223) в сухостойный период (30 дней до родов) по сравнению с ранним периодом лактации (7 дней после родов). На сегодняшний день в базе данных микроРНК MiRBase аннотировано более 1000 зрелых микроРНК крупного рогатого скота (редакция 22.1) [48]. В недавнем обзоре Дысина и коллег собраны современные исследования, посвященные определению роли микроРНК в развитии, здоровье и функционировании молочной железы крупного рогатого скота, коз и овец [49].

Длинные некодирующие РНК (днРНК) – это транскрипты длиной более 200 нуклеотидов. Одна днРНК может выполнять сразу несколько функций, среди которых участие в регуляции экспрессии генов путем привлечения ферментов, модифицирующих хроматин, и формирование комплексов рибонуклеопротеидов посредством привлечения белков [29]. В исследовании [50], посвященном выявлению роли длинных некодирующих РНК в регуляции генов в тканях молочной железы крупного рогатого скота, в качестве генов-мишеней были определены участники сигнальных путей, связанных с лактацией, включая клеточный цикл, JAK-STAT, клеточную адгезию и сигнальные пути PI3K-Akt. Также были предложены четыре днРНК (TCONS\_00040268, TCONS\_00137654, TCONS\_00071659 и TCONS\_00000352), которые, вероятно, играют важную роль в регуляции процесса лактации коров. Показана взаимосвязь между перечисленными днРНК, микроРНК (miR-221) и ее предполагаемой мишенью – рецепторной тирозинкиназой ErbB3 (ген *ERBB3*), которая, как было показано ранее [51], может влиять на выживание и дифференцировку клеток эпителия молочной железы во время беременности и лактации.

Кольцевые РНК (circRNA) представляют собой ковалентно замкнутые молекулы РНК, полученные в результате реакций обратного сплайсинга линейных РНК [52]. Кольцевые РНК в основном генерируются из экзонных или интронных последовательностей. Также в литературе имеются данные о возможной трансляции этих молекул [53]. У многоклеточных организмов замечена тканеспецифическая экспрессия кольцевых РНК [54]. В последние годы стали появляться данные о потенциальной способности кольцевых РНК выступать в роли губок для микроРНК [52]. Выступая в качестве регуляторов, они контролируют транскрипцию, сплайсинг пре-мРНК, трансляцию мРНК и функции белков [55]. Могут выступать модификаторами экспрессии родительских генов [52]. Все это указывает на важную роль кольцевых РНК в регуляции различных физиологических процессов, включая иммунные ответы и поведение. В работе Лю и соавт. [56] была продемонстрирована способность пролактин-чувствительной кольцевой РНК влиять на пролиферацию эпителиальных клеток молочной железы коров.

Взаимодействие кольцевой РНК circ08409, микроРНК miR-133a и цитокина TGFB2 было продемонстрировано в работе по изучению механизмов иммунного ответа и апоптоза, вызванных влиянием кадмия на эпителий молочной железы крупного рогатого скота. Кольцевая РНК circ08409, связываясь с miR-133a, ослабляет опосредованное данной микроРНК ингибирование экспрессии *TGFB2* [57].

Данные по эпигенетическому регулированию развития молочной железы более подробно обобщены в недавнем обзоре Ивановой и соавт. “Эпигенетика: новый взгляд на биологию молочной железы” [29].

### Микроорганизмы

Патогены способны влиять на экспрессию генов хозяина через эпигенетические механизмы его клеток, такие как метилирование ДНК, модификации гистонов, некодирующие РНК и факторы сплайсинга, что помогает им уклоняться от иммунного ответа [58]. Кроме этого, во время беременности бактериальные инфекции способны оказывать эпигенетическое влияние на гены, участвующие в эмбриональном развитии [59].

Эффективной стратегией считается модуляция ацетилирования гистонов. Продукты метаболизма патогенных микроорганизмов действуют на активность гистоновых ацетилтрансфераз (НАТ) и гистондеацетилаз (HDAC), подавляя экспрессию генов защиты хозяина [60]. В недавнем обзоре Гангули и Чакраборти, посвященном бактериальной эпигенетике, подробно описаны механизмы модуляции эпигенетической информации клеток-хозяев [59].

Одним из основных возбудителей мастита крупного рогатого скота является коагулазо-положительная бактерия *Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк). В недавно опубликованном исследовании дается оценка влияния данной бактерии на метилирование ДНК и экспрессию генов, связанных с аутофагией, апоптозом и липидным метаболизмом, в секреторной ткани молочной железы коровы [61]. Авторы еще одной работы описывают регуляторный механизм bta-miR-223, которая является преобладающей микроРНК, задействованной в заболевании маститом, вызванным *S. aureus*. Взаимодействуя с геном *CBLB* и ингибируя сигнальный путь PI3K/AKT/NF-κB, данная микроРНК, вероятно, смягчает прогрессирование воспаления [62]. Изучая влияние другого возбудителя мастита *Escherichia coli* (кишечная палочка) на экспрессию генов клеток молочной железы крупного рогатого скота, установили, что вызванное патогеном метилирование области, находящейся на расстоянии 10 тпн перед геном αS1-казеина (*CSN1S1*), приводит к конденсации хроматина и прекращению экспрессии этого гена [63].

Изучив профили микроРНК эпителиальных клеток молочной железы крупного рогатого скота, зараженных бактериями *E. coli* или *S. aureus*, авторы исследования [64] предложили использовать выявленные микроРНК в качестве биомаркеров для диагностики мастита. Четыре дифференциально экспрессируемые микроРНК (bta-miR-2339, miR-499, miR-23a и miR-99b) были уникальными для *S. aureus*, а пять других (bta-miR-184, miR-24-3p, miR-148, miR-486 и let-7a-5p) были уникальными для *E. coli*. Также были определены пять микроРНК, проявляющих временную дифференциальную регуляцию в незараженных клетках (bta-miR-193a-3p, miR-423-5p, miR-30b-5p, miR-29c и miR-un116). Полученные данные также могут свидетельствовать о содействии эпителиальных клеток молочной железы иммунному ответу на инфекционные патогены [64].

С подробным описанием молекулярных механизмов, используемых бактериями для изменения эпигенетических меток в клетках хозяина, можно ознакомиться в обзоре “Эпигенетика и бактериальные инфекции” [58].

## РАЗВИТИЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПО ПЕРИОДАМ

В настоящее время в литературе собран обширный материал по теме развития молочной железы крупного рогатого скота на разных физиологических этапах. Объем накопленной информации выходит далеко за рамки обзора. Таким образом, целью данной главы стала систематизация и обобщение некоторых имеющихся данных о морфофизиологии, генетике, эпигенетической регуляции и влиянии микроорганизмов на развитие молочной железы в эмбриональном, препубертатном и пубертатном периодах, с целью демонстрации сложности и многоуровневой регуляции этого процесса.

### *Эмбриональный период*

Эмбриональное развитие молочной железы млекопитающих протекает по схожему сценарию у большинства представителей этого класса. На сегодняшний день в литературе представлено относительно немного данных, описывающих молекулярные взаимодействия на этом этапе у представителей крупного рогатого скота, что затрудняет формирование общей картины процесса. В этой связи молекулярные механизмы данного этапа развития будут рассмотрены преимущественно на примере мыши. Стоит ожидать, что некоторые аспекты могут отличаться от таковых у крупного рогатого скота.

На этом этапе формируются эпителиальные и окружающие стромальные компартменты, дающие начало основным структурам молочной железы [65]. Продолжительность эмбрионального

периода у крупного рогатого скота составляет в среднем 285 дней (рис. 1).

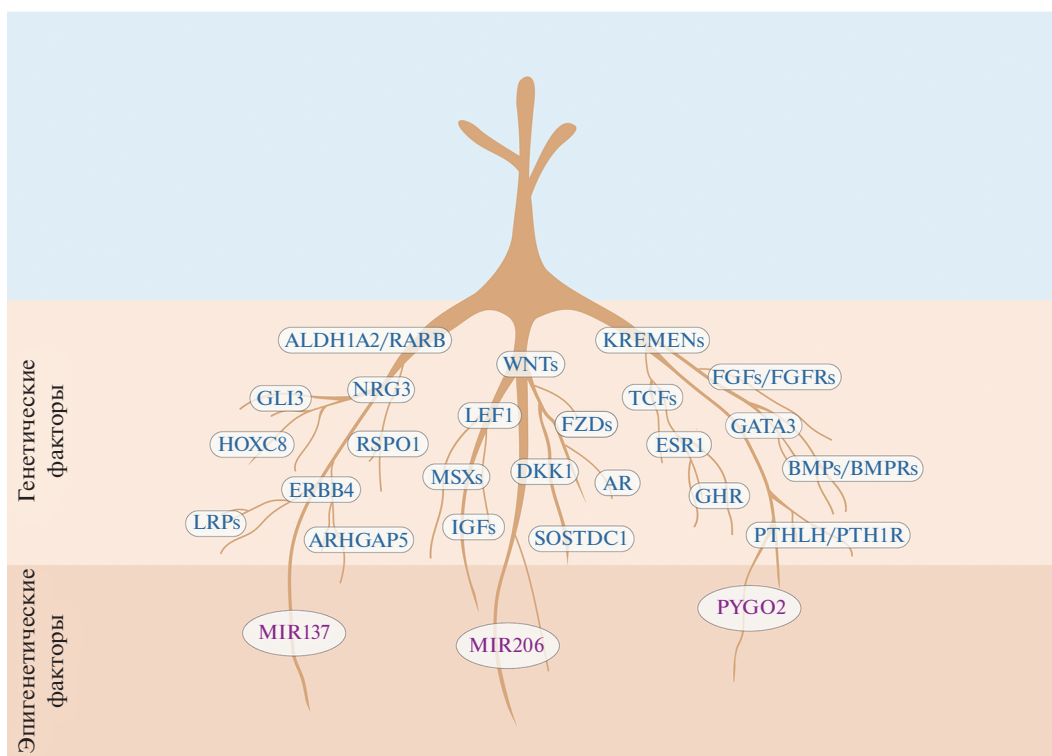
### *Морфофизиологический аспект*

Ранние структуры молочных желез начинают формироваться в процессе маммогенеза еще в утробе матери. Зародышевые экто- и мезодерма дают начало эпителиальным и окружающим их стромальным компартментам [66]. На 35-е сутки развития эмбриона крупного рогатого скота становятся заметны линии молочной железы, представленные утолщением эктодермы. Два гребня, возникающие на каждой линии, впоследствии дают начало “четвертям” вымени [67]. На стадии бугорка молочной железы пролиферативные эпителиальные зоны в гребнях округляются и погружаются в мезенхиму. Зачаток молочной железы формируется примерно на 40-й день [68]. Становится заметен половой диморфизм. Молочные зачатки у самцов больше, чем у самок. На 65-е сутки быстрый рост мезенхимы, окружающей каждый зачаток, поднимает его над плоскостью эпителия. Позже начинается пролиферация в продольном направлении и формируется твердое ядро эпителиальных клеток [67]. Первичный росток и сосок появляются к 80-мудню беременности, а к 90-му – ответвляются вторичные ростки, превращающиеся в крупные молочные протоки, впадающие в цистерну железы [67, 68]. Цистерны железы и сосков образуются в процессе канализации первичного и вторичных ростков за счет ремоделирования ткани и апоптоза на 100-й день эмбриогенеза.

Начиная с 7-го месяца развития, зачаток молочной железы самки крупного рогатого скота ускоряет свой рост, который сопровождается расширением жировой подушки молочной железы [67]. Таким образом, к моменту рождения у плода различимы сосок, цистерна соска и цистерна железы, жировая ткань разделена системой соединительной ткани, сформировались сосудистая и лимфатическая системы. Рядом с цистерной молочной железы имеется несколько клеток протока, но нет альвеол [69]. Эпителиальная ткань находится в зачаточном состоянии, при этом имеющиеся клетки способны к дальнейшей пролиферации и определенной специфичной для молочной железы дифференцировке [68].

### *Генетические факторы*

Начало развития молочных желез регулируется сигнальными каскадами: BMP, Wnt, FGF, Neuregulin, Hedgehog. Активность некоторых участников данных путей регистрируется в разные периоды эмбриогенеза, а также после рождения животного. Протяженность и расположение линии молочных желез относительно переднезадней и дорсо-вентральной осей туловища, а также инициация



**Рис. 1.** Графическое представление эмбрионального периода развития молочной железы крупного рогатого скота. Крона дерева символизирует рудиментарную сеть протоков, сформированную к моменту рождения. Для рис. 1, 2: в области корней расположены аббревиатуры генов, принимающих участие в морфогенезе на данном этапе развития. Для лучшей визуализации некоторые гены были объединены в семейства с добавлением к аббревиатуре буквы “s”. Символьные обозначения генов соответствуют аббревиатурам рекомендованным: HGNC, VGNC, MGNC, NCBI и UniProt.

морфогенеза плакод находятся под контролем ряда факторов роста и транскрипционных факторов. Транскрипты генов семейства Wnt являются одними из самых ранних маркеров линии молочных желез [70]. Белки Wnt6, Wnt3a и Wnt10b регистрируются в эпидермисе и могут взаимодействовать с Fgf10, Tbx3, Vmp2, Vmp4 и Nrg3 [71, 72].

Экспрессия гена транскрипционного фактора *Tbx3* наблюдается в мезенхиме молочной железы, а в дальнейшем и в самих плакодах, и поддерживается участниками сигнальных путей FGF (через *FGFR1b*, *FGFR2c* и *FGF10*) и Wnt [73]. Взаимная регуляция дорсально экспрессирующегося *Tbx3* и детектируемого более вентрально *Vmp4* играет роль в позиционировании линии молочных желез [74, 75]. В то же время ретиноевая кислота способствует экспрессии *Tbx3*, а усиление ее сигнала ингибирует экспрессию фактора роста *Vmp4* и подавляет передачу сигналов Wnt. Ген *Raldh2*, который кодирует фермент, катализирующий синтез ретиноевой кислоты, и ген *Rarb*, кодирующий рецептор ретиноевой кислоты, участвующий в передаче сигнала, являются важными участниками этого каскада [76]. *Hoxc8* (транскрипционный фактор) положительно регулирует экспрессию *Tbx3*, *Fgf10* и передачу сигналов Wnt/ $\beta$ -catenin

[72]. Член семейства эпидермальных факторов роста – фактор роста Neuregulin-3 (Nrg3) также играет роль в инициации плакод молочных желез, способствуя распространению сигнала FGF10 [74, 77]. Nrg3 связывает и активирует рецепторную тирозинкиназу ErbB4, регулирующую пролиферацию и дифференцировку клеток [74]. На активность *Fgf10* также влияет Gli3, фактор транскрипции, опосредующий каноническую передачу сигналов Hedgehog [78]. Полногеномный поиск ассоциаций по признаку наличия или отсутствия дополнительных сосков у коров выявил два пика на 17-й хромосоме в области генов *TBX3* и *TBX5*, что подчеркивает их важную роль в процессах формирования молочной железы [79]. Также для образования плакод необходим транскрипционный фактор из семейства белков, содержащих домен “цинковый палец”, Gata-3 [80].

С началом формирования плагоды молочных желез эпителиальные клетки начинают секретировать белок, родственному паратиреоидному гормону PTHrP (ген *Pthlh*) [81]. Ген его рецептора, *Pth1r*, экспрессируется в незрелых клетках мезенхимы, окружающей инвагинирующую почку молочной железы. Действуя на свой рецептор, PTHrP стимулирует мезодерму к формированию

мезенхимы молочной железы [82]. Мезенхима молочных желез состоит из трех–пяти концентрических слоев фибробластов, радиально уплотняющихся вокруг эпителиального зачатка. Взаимодействие между мезенхимой и эпителиальными клетками молочных желез способствует последующему удлинению зачатка и образованию отростка молочных желез [82]. Таким образом, РТНгР способствует разрастанию протоков и морфогенезу соска [83]. По мере роста протоков мезенхимальные клетки дифференцируются в связанную с соском строму.

Путь Wnt играет важную роль в развитии молочной железы, участвуя в дифференцировке, пролиферации и выживании клеток [71]. Канонический Wnt/ $\beta$ -catenin путь активируется в конденсирующейся мезенхиме в период формирования зародышевых зачатков молочных желез. Один из возможных механизмов активации этого пути проходит через молекулы Rspo1 и Wnt11 и регулируется действием РТНгР [81]. Сигнал Wnt способствует стабилизации и накоплению цитоплазматического  $\beta$ -catenin, который перемещается в ядро, где взаимодействует с транскрипционными факторами Lef1 и Tcfs, регулируя экспрессию генов-мишеней Wnt [84]. Lef1 участвует в передаче сигналов Wnt от мезенхимных клеток к эпителиальным [85]. Сигнал модулируется посредством связывания белков Wnt с рецепторами семейств Frizzled и корецепторами семейства Lrp [81]. Lrp5 необходим для поддержания активности протоковых стволовых клеток [86]. Lrp4, связываясь с семейством белков Wise (ген *Sostdc1*), также участвует в регуляции передачи сигналов Wnt/ $\beta$ -catenin [87]. Wise способен блокировать активность белков Wnt [88] и конкурировать с ними за связывание, например, с LRP6, экспрессия которого наблюдается и в базальном, и в просветном эпителии молочных желез. Также Wise может выступать в качестве ингибитора пути BMP [89]. Регулируя процесс развития молочной железы, описанный ранее, ген *SOSTDC1* влияет на молочную продуктивность коров и по данным работы Гургула и соавт. находится под влиянием отбора у аборигенной породы польского красного рогатого скота [90]. В качестве Wnt-ингибиторов выступают антагонисты dickkopf (Dkk) и kremen (Krm), препятствующие сборке комплексов лиганд–рецептор [81, 91, 92]. Связывание Dkk1 с Lrp6 блокирует передачу сигнала, предотвращая образование комплекса Wnt–Fz [92]. У млекопитающих присутствует множество различных белков Wnt и их рецепторов Frizzled (Fzd). Все они обеспечивают обширную сеть передачи сигналов, которая усиливается сигналами факторов роста [71].

Являясь одной из ключевых молекул стадии зачатка, РТНгР усиливает сигналы пути BMP между мезенхимой и эпителием молочных желез [82]. РТНгР активирует экспрессию BMPRIА в

мезенхиме, что повышает чувствительность этих клеток к BMP4. Передача сигналов BMP4 запускает разрастание эпителия и способствует началу экспрессии *Msx1* и *Msx2* [82, 93]. Важную роль в пролиферации клеток и разрастании протоков играют сигналы IGF и P190-B RhoGAP (ген *ARHGAP5*) [94]. Многие молекулы, участвующие в ранних этапах развития молочной железы, включая фактор транскрипции TBX, а также сигнальные пути Ectodysplasin/NF- $\kappa$ B, РТНгР и BMP, необходимы и для морфогенеза ветвления [82].

Данные по экспрессии рецепторов некоторых гормонов в молочной железе плода крупного рогатого скота были отмечены в ряде работ. В частности, Кнабель и соавт. [95] фиксировали экспрессию рецептора гормона роста (Growth hormone receptor, GHR) с третьего по девятый месяц развития плода. Матричная РНК и белок GHR были выявлены в эпителии протоков, строме, эндотелиальных клетках сосудов и эпидермиса [95]. Индукция рецептора андрогенов (AR) является еще одним важным эффектом сигналов РТНгР, действующих на клетки мезенхимы молочной железы. Другим маркером мезенхимы молочной железы является рецептор эстрогена альфа 1. Некоторые авторы отмечают влияние материнских и плацентарных гормонов на развитие молочной железы эмбриона. В работе Сперони и соавт. [96] рассматривается влияние эстрогена на развитие молочных желез эмбриона мыши. Однако дефицит рецепторов гормонов не вызывает явного изменения в фенотипе молочной железы до полового созревания. На основании этих данных были сделаны выводы о том, что до полового созревания молочная железа самок развивается гормонально-независимым путем [97].

#### Эпигенетические факторы

Ядерный белок Pygo2, обнаруженный в эпителии плакод, зачатках молочных желез, а также в их мезенхимных клетках, участвует в регуляции популяции клеток-предшественников молочной железы. Связываясь с метилированным по лизину в 4-м положении гистонном H3 (H3K4me) и рекрутируя комплексы метилтрансферазы (HMT) данного гистона, Pygo2 способствует триметилрованию H3K4me3. Таким образом, являясь фактором ремоделирования хроматина, Pygo2 контролирует экспрессию генов-мишеней пути Wnt/ $\beta$ -catenin [98]. Авторы исследования, посвященного изучению сигнатур отбора среди популяций польского красного рогатого скота, обнаружили *PYGO2* среди генов, подвергшихся селекции по признаку молочной продуктивности [90].

Различные микроРНК, включая miR-206, входят в регуляторную сеть, ответственную за процесс образования мезенхимы молочных желез. Во время раннего развития молочных желез miR-206 детектируется в развивающейся мезенхиме мо-



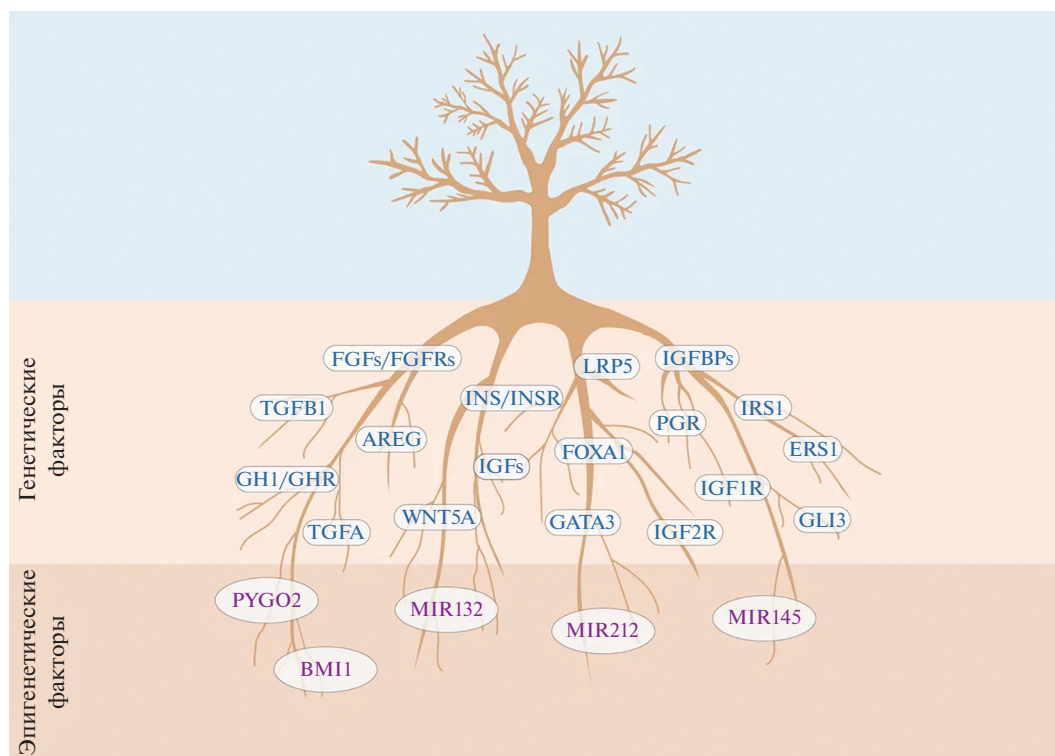


Рис. 2. Графическое представление пубертатного периода развития молочной железы крупного рогатого скота. Ветви дерева символизируют терминальные протоковые единицы (TDU).

лочных желез и жировой подушке. Сверхэкспрессия miR-206 влияет на экспрессию факторов роста Wnt и транскрипционных факторов *Tbx3* и *Lef1* [99]. МикроРНК miR-137 также участвует в эмбриональном маммогенезе. Сверхэкспрессия miR-137 способствует утолщению эпителия молочных желез [100].

### Препубертатный, пубертатный и постпубертатный периоды

Развитие молочной железы крупного рогатого скота в препубертатный период (рис. 2) имеет важное значение для будущей продуктивности животного. На этом этапе происходит активный морфогенез. К 90-дневному возрасту масса паренхиматозной ткани увеличивается в десятки раз [68]. Факторы среды оказывают непосредственное влияние на процессы развития. Например, повышенное потребление питательных веществ в этом возрасте может оказывать негативное воздействие на развитие молочных желез, нарушая пролиферацию эпителиальных клеток. Некоторые авторы объясняют данный эффект снижением концентрации циркулирующего гормона роста [101]. Другие исследователи описывают изменения морфологии миоэпителиальных клеток, вызванные повышенной скоростью поступления питательных веществ [102]. Таким об-

разом, понимание роли различных стимулов, а также молекулярно-генетических основ развития молочной железы в раннем возрасте может стать ключом к раскрытию потенциала этого важнейшего органа [102].

### Морфофизиологический аспект

У новорожденных телок паренхима молочной железы представлена рудиментарной сетью протоков, соединенных с небольшой цистернальной полостью, а жировая прослойка практически не пальпируется [9, 67].

В препубертатном периоде протоки молочных желез крупного рогатого скота имеют вид компактных древовидных структур, называемых терминальными протоковыми единицами (TDU) [103]. TDU представлены эпителиальными канатиками с 5–10 отходящими от них протоковыми выростами. Эпителиальные клетки канатика образуют базальный, средний и просветный слой. Клетки базального слоя прилегают к базальной мембране, клетки просветного контактируют с просветом протока. Средний слой расположен между базальным и просветным [103]. Слой базальных клеток, вероятнее всего, представлен недифференцированными клетками и предполагаемыми миоэпителиальными предшественниками [104]. Скоординированный рост, ветвление и рас-



ширение TDU, а также рост рыхлой соединительной ткани, окружающей их, способствуют удлинению протоков. Новые TDU образуются как выросты недавно сформированных протоков. Таким образом, постепенно формируется зрелая структура протоков [104].

Первые месяцы жизни железы растут примерно с той же скоростью, что и остальное тело, т.е. изометрически [105]. В это время наблюдается рост неэпителиальных тканей [69, 106]. В возрасте девять недель вес паренхимы молочной железы составляет примерно 2.5 г, а вес жировой подушки 80 г [107]. Примерно с трех месяцев рост становится аллометрическим, молочные железы начинают расти в 2–4 раза быстрее остальных частей тела, что связывают с постепенным созреванием яичников [21]. Происходит быстрый рост жировой подушки и растущих в нее протоков [69]. Такой темп сохраняется до наступления половой зрелости [108, 109]. Возраст достижения половой зрелости в среднем наблюдается в промежутке 6–9 мес., однако может широко варьировать у разных пород и зависит от факторов среды. Например, у телок крупных молочных пород половое созревание, как правило, наступает в возрасте 9–11 мес. при средней массе тела 250–280 кг [69]. Половое созревание у животных, обитающих в южных широтах, наступает раньше, чем в северных. Физиологическая зрелость достигается в возрасте 14–16 мес. Этот период считается наиболее подходящим для первого осеменения [110].

Гистологические срезы показали, что в период течки клетки молочной железы пролиферировали, просвет протоков был заполнен жидкостью и выстлан кубовидным эпителием. Однако часть вновь образованных клеток не наблюдалась во время последующих метэструса (2–4-й дни цикла) и диэструса (7–18-й дни цикла). В фазу диэструса просвет был выстлан столбчатыми клетками, не содержащими секрета и выглядел сморщенным [109]. Стоит отметить, что размер железы до зачатия составляет лишь часть того объема, которого железа достигает перед началом лактации [111].

#### *Генетические факторы*

Половое созревание инициирует морфогенез ветвления протоков молочной железы, удлинение которых происходит за счет роста и развития терминальных протоковых единиц (TDU) [9]. Этот процесс главным образом регулируется стероидными гормонами яичников, соматотропином, а также многочисленными факторами роста [105, 112]. Кроме этого, в литературе отмечена роль пролактина и стероидов надпочечников [113]. Строма и жировая ткань принимают непосредственное участие в пролиферации и дифференцировке эпителиальных клеток молочной железы, участвуя в пере-

даче гормональных сигналов и синтезируя факторы роста, обладающие митогенным действием [105].

У пубертатных и взрослых самок развитие молочных желез тесно связано с репродуктивными циклами. Средняя продолжительность цикла у телок 20 дней (18–22 дня), у коров 21 день (18–24 дня) [114]. Выделяют две основные фазы: фолликулярную (проэструс и эструс) и лютеиновую (метэструс и диэструс). Фолликулярная фаза характеризуется быстрым ростом фолликулов и последующей овуляцией. Растущие фолликулы вырабатывают эстрогены, необходимые для морфогенеза протоков молочных желез, а также для стимуляции выработки лютеинизирующего гормона [115]. Эти процессы вызывают высвобождение яйцеклетки, после чего начинается лютеиновая фаза, в течение которой происходит формирование, развитие и регресс желтого тела, секретирующего прогестерон [74]. Уровни последнего, по мнению некоторых авторов, положительно коррелируют с плотностью ткани, а также с апоптозом протоков [116]. Выделяют две основные формы рецептора эстрогена: ER $\alpha$  и ER $\beta$ . ER $\alpha$  является преобладающей формой у телок препубертатного возраста [117]. Его экспрессия наблюдается в части эпителиальных клеток паренхимы молочной железы и примерно у трети фибробластов и адипоцитов жировой подушки [118]. В ряде работ отмечена связь морфогенеза протоков и рецептора эстрогена  $\alpha$  [119]. Таким образом, гормоны яичников регулируют пролиферацию эпителиальных клеток молочной железы, контролируя развитие ее паренхимы [105].

Процедура удаления яичников – овариэктомия долгое время оставалась одним из самых популярных способов демонстрации влияния половых гормонов на развитие молочных желез крупного рогатого скота и некоторых других domesticированных видов животных. В работе 1953 г. Уоллес одним из первых продемонстрировал эффект овариэктомии на развитие молочной железы коров в период полового созревания. Препубертатное удаление основного источника эстрадиола и прогестерона значительно влияло на маммогенез и влекло почти полное прекращение развития молочных желез [120]. В более поздних работах авторы получили похожий результат. В 1993 г. Пуруп и соавт. обнаружили, что у телок, прошедших процедуру овариэктомии до полового созревания, масса паренхимы была в 5 раз ниже, чем у интактных животных [121]. В статье 2003 г. Берри и соавт. продемонстрировали, что у самок крупного рогатого скота, подвергшихся овариэктомии в возрасте 2.5 мес., пролиферация клеток молочной железы в 10 раз ниже, чем у контрольной группы, и наблюдается сверхэкспрессия  $\alpha$ -формы рецептора эстрадиола (ER $\alpha$ ) [122]. Относительно недавно была выдвинута гипотеза, в которой эстроген рассматривает-

ся как негативный регулятор миоэпителиальной дифференцировки. Таким образом, в отсутствие эстрогена увеличенная популяция миоэпителиальных клеток может ограничивать пролиферацию эпителиальных клеток просвета [123].

В литературе также имеются данные, описывающие реакцию организма на введение различных гормонов после процедуры удаления яичников [67]. Так, введение комбинации эстрадиола и прогестерона способствовало нормальному развитию молочной железы [124], как и инъекция только эстрадиола, при этом инъекция одного лишь прогестерона не была эффективна [125]. 124 гена чувствительных к эстрогену были идентифицированы в клетках паренхимной ткани и жировой подушки препубертатной молочной железы крупного рогатого скота после соответствующей обработки эстрадиолом [126]. Положительный эффект на рост паренхимы молочной железы описан и при введении гормона роста [127], и при интрамармарной инфузии IGF-I [67, 128]. Большинство данных свидетельствуют о том, что многие эффекты соматотропина на молочную железу могут быть опосредованы инсулиноподобными факторами роста (IGF) [69, 129].

Роль пролактина как регулятора развития молочной железы у пубертатных самок крупного рогатого скота на данный момент остается не до конца изучена. Некоторые авторы демонстрируют связь положительного аллометрического роста молочной железы телок пубертатного возраста с высокими значениями пролактина [109]. В то же время другие исследователи отмечают отрицательную корреляцию между уровнями пролактина и скоростью роста железистой ткани в этот период [101].

Как было сказано ранее, регуляция развития молочных желез находится под контролем сложных взаимодействий гормонов и факторов роста. При этом существует баланс между регуляторами, ответственными за пролиферацию и ветвление, и регуляторами, ограничивающими и моделирующими эпителиальную сеть [106]. Члены семейств факторов роста IGF, EGF, а также FGF-1 рассматриваются как стимуляторы роста, тогда как FGF-2 и TGF- $\beta$ 1 могут проявлять двойственный эффект [130].

Комплексная регуляция пути IGF играет важную роль в развитии молочных желез крупного рогатого скота [66]. Среди участников пути IGF можно выделить: три лиганда (IGF-I, IGF-II и INS) и их рецепторы (IGF-IR, IGF-IIR и IR), белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста (IGFBP 1–6) и их специфические протеазы [131]. Взаимодействие перечисленных молекул влияет на клеточную пролиферацию, миграцию и апоптоз [66]. Например, IGF1 способствует росту протоков [103]. IGFBP понижают активность IGF, препятствуя их связыванию с IGF-рецепто-

рами [130]. IGFBP также способны увеличивать IGF-активность, выступая в роли средств доставки к клеткам-мишеням [129]. Кроме этого, IGFBP могут проявлять IGF-независимую активность и разрушаться протеазами [66]. В некоторых работах продемонстрировано влияние гормонов на участников пути IGF. В эксперименте по введению телкам эстрадиола последний увеличивал концентрацию IGF-1 как в паренхиме молочной железы, так и в жировой подушке и снижал количество IGFBP-3 в жировой подушке [132]. Повышенная экспрессия гена *IGF-I* сопровождалась увеличением пролиферации и значительным снижением экспрессии рецептора эстрогена  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) в эпителиальных клетках молочной железы препубертатных телок [118].

Семейство эпидермальных факторов роста, в число которых входят EGF, TGF- $\alpha$  и AREG, участвует в пролиферации эпителиальных клеток молочной железы коров. Семейство трансформирующих факторов роста бета (TGF- $\beta$ ) также принимает участие в регуляции роста и развития молочных желез в период полового созревания [130]. Во время маммогенеза наблюдаются высокие уровни экспрессии TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ 1, что свидетельствует о значимой роли данных факторов роста в период пубертатного развития [133]. По данным исследований TGF- $\alpha$  стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток молочных желез коров [133], в то время как TGF- $\beta$  выступает в роли ингибитора развития протоков в период полового созревания [71]. Снижение экспрессии пролактина влечет за собой повышение содержания TGF- $\alpha$  [133]. Также показано, что IGF-связывающий белок (IGFBP)-3 может усиливать способность TGF- $\alpha$  стимулировать пролиферацию эпителиальных клеток молочной железы крупного рогатого скота [134]. Высокие уровни концентрации TGF- $\beta$ 1 замедляют митогенез, индуцированный факторами роста семейств EGF и IGF [130]. Также было показано, что для проявления ингибирующего действия TGF- $\beta$  необходим Wnt5a. В отсутствие *Wnt5a* у мышей наблюдаются более крупные TEBs, рост инвазии протоков, усиление бокового ветвления. Таким образом, Wnt5a, действуя как негативный регулятор расширения и ветвления, может способствовать правильному формированию протокового дерева [71]. Другие участники Wnt-пути также принимают активное участие в регуляции развития молочных желез в период полового созревания. Например, снижение экспрессии *Lrp5* ведет к сокращению количества TEBs и замедлению проникновения протока через жировую подушку [71]. Еще один участник семейства эпидермальных факторов роста, AREG (амфигулин), является важным звеном в развитии молочных желез [103]. Амфигулин является лигандом EGFR. AREG выступает в качестве медиатора передачи сигналов эстрогена и также способствует разви-

тию протоков и образованию ТЕВ в молочных железах мышей [135].

По данным ряда исследований члены семейства факторов роста фибробластов FGF участвовали в изменении морфологических и функциональных свойств молочной железы крупного рогатого скота, проявляя различную митогенную активность. Так, FGF-1 выступал в качестве стимулятора, в то время как FGF-2 зависел от концентрации и в объеме 50 и 100 нг/мл играл роль ингибитора [130].

Транскрипционный фактор Gata-3, также необходимый для развития плакод на стадии эмбриогенеза, является важным регулятором развития молочной железы во время постнатального развития. Данная молекула выполняет роль регулятора пролиферации и дифференцировки клеток просвета [80]. В качестве мишени регуляторной сети GATA-3 выступает *FOXAI* [136].

### *Эпигенетические факторы*

Эпигенетический сайленсер Bmi1 из группы поликомб белков (PcG), участвуя в пролиферации и дифференциации коммитированных клеток эпителия молочных желез, играет важную роль в постнатальном развитии молочных желез [137]. Экспрессия ранее описанного ядерного белка Puro2 наблюдается также и на этапе пубертатного развития молочных желез. Сигналы Puro2 регистрируются в некоторых кэп-клетках терминальных протоков молочных желез [98].

МикроРНК осуществляют посттранскрипционную регуляцию экспрессии своих генов-мишеней, являясь важным звеном молекулярных каскадов. МикроРНК bta-miR-145, действуя на IRS1, регулирует пролиферацию эпителиальных клеток молочной железы коров. Используя базу данных DAVID [138], группа исследователей обнаружила среди предполагаемых мишеней bta-miR-145 участников сигнального пути MAPK, в число которых входит IRS1. Было установлено, что сверхэкспрессия bta-miR-145 значительно снижала разрастание эпителия [139].

МикроРНК miR-212 и miR-132, экспрессирующиеся в строме молочных желез, по мнению авторов исследования [140] являются одними из основных регуляторов эпителиально-стромальных взаимодействий, необходимых для правильного пубертатного развития молочной железы у мыши. Данные молекулы контролируют разрастание эпителиальных протоков. Мишенью miR-212 и miR-132 является матриксная металлопротеиназа MMP-9. Металлопротеиназы обладают способностью разрушать коллаген. В отсутствие описанных микроРНК экспрессия MMP-9 увеличивается, что может препятствовать отложению коллагена и приводить к гиперактивации сигнального пути

TGF- $\beta$ , тем самым нарушая отрастание протоков [140].

В работе, посвященной профилированию микроРНК в ткани молочной железы телок молочной и мясной пород, авторы исследования идентифицировали 54 дифференциально экспрессируемых микроРНК. Анализ генов-мишеней показал, что основные различия между экспрессией исследуемых микроРНК были связаны с активностью стволовых клеток молочных желез, а также с регуляцией сигнальных путей, TGF- $\beta$ , инсулина и Wnt, играющих важную роль в развитии молочной железы. Полученные данные указывают на связь между специфическим паттерном микроРНК и высоким потенциалом развития молочной железы молочного скота [141].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Растущий спрос общества на продукцию сельскохозяйственных животных обуславливает необходимость постоянной модернизации селекционных программ. Повышение точности предсказания фенотипов хозяйственно значимых признаков является одной из главных задач отрасли. Особую актуальность приобретает разработка программ геномной селекции для отечественных пород крупного рогатого скота, учитывающих малую численность поголовья большинства местных пород. Рассмотренные в настоящем обзоре молекулярно-генетические механизмы развития и функционирования молочной железы крупного рогатого скота могут быть использованы в качестве априорной биологической информации для повышения точности геномной оценки племенной ценности.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания. Номер регистрации темы "Оценка генетического потенциала национальных пород крупного рогатого скота" 122020800034-4.

Работа поддержана КНТП Минобрнауки РФ.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. FAO. 2021. Food Outlook – Biannual Report on Global Food Markets. Food Outlook, November 2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb7491en>
2. FAO, 2010 г. Продовольственный прогноз. Отдел торговли и рынка FAO. Продовольственная и сельскохозяйственная Организация Объединен-

- ных Наций. Рим, Италия, 2010. <http://www.fao.org/3/a-ак349е.pdf>, по состоянию на 20 ноября 2021 г.
3. *Hayes B., Goddard M.* Genome-wide association and genomic selection in animal breeding // *Genome*. 2010. V. 53. № 11. P. 876–883. <https://doi.org/10.1139/G10-076>
  4. *Столповский Ю.А., Пискунов А.К., Свищева Г.Р.* Геномная селекция. I. Последние тенденции и возможные пути развития // *Генетика*. 2020. Т. 56. № 9. С. 1006–1017. <https://doi.org/10.31857/S0016675820090143>
  5. *De Roos A.P.W., Hayes B.J., Goddard M.E.* Reliability of genomic predictions across multiple populations // *Genetics*. 2009. V. 183. № 4. P. 1545–1553. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.104935>
  6. *Edwards S.M., Sørensen I.F., Sarup P. et al.* Genomic prediction for quantitative traits is improved by mapping variants to gene ontology categories in *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. 2016. V. 203. № 4. P. 1871–1883. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.187161>
  7. *Mollandin F., Gilbert H., Croiseau P., Rau A.* Accounting for overlapping annotations in genomic prediction models of complex traits // *Research Square*. 2022. February 22. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1366477/v1>
  8. *Strucken E.M., Laurenson Y.C.S.M., Brockmann G.A.* Go with the flow—biology and genetics of the lactation cycle // *Frontiers in Genet.* 2015. V. 6. P. 118. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00118>
  9. *Finot L., Chanut E., Dessauge F.* Bovine mammary gland development: New insights into the epithelial hierarchy // *BioRxiv*. 2018. P. 251637. <https://doi.org/10.1101/251637>
  10. *VanRaden P.M.* Symposium review: How to implement genomic selection // *J. Dairy Sci.* 2020. V. 103. № 6. P. 5291–5301. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17684>
  11. *Ibeagha-Awemu E.M., Zhao X.* Epigenetic marks: Regulators of livestock phenotypes and conceivable sources of missing variation in livestock improvement programs // *Frontiers in Genet.* 2015. V. 6. P. 302. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00302>
  12. *Feinberg A.P., Irizarry R.A., Fradin D.* Personalized epigenomic signatures that are stable over time and covary with body mass index // *Sci. Transl. Med.* 2010. V. 2. № 49. P. 49–67. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001262>
  13. *Yang Z., Liu S., Hu Y. et al.* Comparative whole genome DNA methylation profiling of cattle tissues reveals global and tissue-specific methylation patterns // *BMC Biology*. 2020. V. 18. № 85. P. 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00793-5>
  14. *Su J., Wang Y., Xing X. et al.* Genome-wide analysis of DNA methylation in bovine placentas // *BMC Genomics*. 2014. V. 15. № 12. P. 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-12>
  15. *Park S., Min S., Choi H.S., Yoon S.* Deep recurrent neural network-based identification of precursor microRNAs // *Adv. Neural Inform. Proc. Systems*. 2017. V. 30. P. 1–10.
  16. *Liang M., Li Z., Chen T., Zeng J.* Integrative data analysis of multi-platform Cancer Data with a Multimodal Deep Learning Approach // *IEEE/ACM Transactions on Computational Biol. and Bioinformatics*. 2014. V. 12. № 4. P. 928–937. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2014.2377729>
  17. *Hilton I.B., D'Ippolito A.M., Vockley C.M. et al.* Epigenome editing by a CRISPR-Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. № 5. P. 510–517. <https://doi.org/10.1038/nbt.3199>
  18. *Neville M.C., McFadden T.B., Forsyth I.* Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion // *J. Mammary Gland Biol. and Neoplasia*. 2002. V. 7. № 1. P. 49–66. <https://doi.org/10.1023/A:1015770423167>
  19. *Monteiro F.L., Direito I., Helguero L.A.* Hormone signaling pathways in the postnatal mammary gland // *Tissue-Specific Cell Signaling*. Cham: Springer, 2020. P. 279–315. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-44436-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-44436-5_10)
  20. *VanHouten J., Dann P., McGeoch G. et al.* The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport // *The J. Clin. Investigation*. 2004. V. 113. № 4. P. 598–608. <https://doi.org/10.1172/JCI18776>
  21. *Svennersten-Sjaunja K., Olsson K.* Endocrinology of milk production // *Domestic Animal Endocrinol.* 2005. V. 29. № 2. P. 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.006>
  22. *Scully K.M., Gleiberman A.S., Lindzey J. et al.* Role of estrogen receptor- $\alpha$  in the anterior pituitary gland // *Mol. Endocrinology*. 1997. V. 11. № 6. P. 674–681. <https://doi.org/10.1210/mend.11.6.0019>
  23. *Bachelot A., Binart N.* Reproductive role of prolactin // *Reproduction*. 2007. V. 133. № 2. P. 361–369. <https://doi.org/10.1530/REP-06-0299>
  24. *Frasor J., Gibori G.* Prolactin regulation of estrogen receptor expression // *Trends Endocrinology & Metabolism*. 2003. V. 14. № 3. P. 118–123. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(03\)00030-4](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(03)00030-4)
  25. *Banta J.A., Richards C.L.* Quantitative epigenetics and evolution // *Heredity*. 2018. V. 121. № 3. P. 210–224. <https://doi.org/10.1038/s41437-018-0114-x>
  26. *Holliday R., Pugh J.E.* DNA modification mechanisms and gene activity during development: Developmental clocks may depend on the enzymic modification of specific bases in repeated DNA sequences // *Science*. 1975. V. 187. № 4173. P. 226–232. <https://doi.org/10.1126/science.187.4173.226>
  27. *Chen C., Yang M.C.K., Yang T.P.* Evidence that silencing of the *HPRT* promoter by DNA methylation is mediated by critical CpG sites // *J. Biol. Chemistry*. 2001. V. 276. № 1. P. 320–328. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007096200>
  28. *Laurent L., Wong E., Li G. et al.* Dynamic changes in the human methylome during differentiation // *Genome Research*. 2010. V. 20. № 3. P. 320–331. <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.101907.109>
  29. *Ivanova E., Guillou S.L., Hue-Beauvais C., Provost F.L.* Epigenetics: New insights into mammary gland biology //

- Genes. 2021. V. 12. № 2. P. 231.  
<https://doi.org/10.3390/genes12020231>
30. *Choi S.W., Friso S.* Epigenetics: A new bridge between nutrition and health // *Advances in Nutrition*. 2010. V. 1. № 1. P. 8–16.  
<https://doi.org/10.3945/an.110.1004>
  31. *Jang H., Serra C.* Nutrition, epigenetics, and diseases // *Clin. Nutr. Res*. 2014. V. 3. № 1. P. 1–8.  
<https://doi.org/10.7762/cnr.2014.3.1.1>
  32. *Halušková J., Holečková B., Staničová J.* DNA methylation studies in cattle // *J. Applied Genet*. 2021. V. 62. № 1. P. 121–136.  
<https://doi.org/10.1007/s13353-020-00604-1>
  33. *Karlić R., Chung H.R., Lasserre J. et al.* Histone modification levels are predictive for gene expression // *PNAS*. 2010. V. 107. № 7. P. 2926–2931.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0909344107>
  34. *Shilatifard A.* Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression // *Annu. Rev. Biochem*. 2006. V. 75. P. 243–269.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142422>
  35. *Sparmann A., van Lohuizen M.* Polycomb silencers control cell fate, development and cancer // *Nat. Reviews Cancer*. 2006. V. 6. № 11. P. 846–856.  
<https://doi.org/10.1038/nrc1991>
  36. *Silva L.G., Ferguson B.S., Avila A.S., Faciola A.P.* Sodium propionate and sodium butyrate effects on histone deacetylase (HDAC) activity, histone acetylation, and inflammatory gene expression in bovine mammary epithelial cells // *J. Animal Sci*. 2018. V. 96. № 12. P. 5244–5252.  
<https://doi.org/10.1093/jas/sky373>
  37. *Moran Y., Agron M., Praher D., Technau U.* The evolutionary origin of plant and animal microRNAs // *Nat. Ecol. Evol*. 2017. V. 1. № 0027. P. 1–8.  
<https://doi.org/10.1038/s41559-016-002>
  38. *Do D.N., Ibeagha-Awemu E.M.* Non-coding RNA roles in ruminant mammary gland development and lactation // *Current Topics in Lactation*. 2017. V. 55.  
<https://doi.org/10.5772/67194>
  39. *Silveri L., Tilly G., Vilotte J.L., Provost F.L.* MicroRNA involvement in mammary gland development and breast cancer // *Reproduction Nutrition Development*. 2006. V. 46. № 5. P. 549–556.  
<https://doi.org/10.1051/rnd:2006026>
  40. *Wang X., Gu Z., Jiang H.* MicroRNAs in farm animals // *Animal*. 2013. V. 7. № 10. P. 1567–1575.  
<https://doi.org/10.1017/S1751731113001183>
  41. *Filipowicz W., Bhattacharyya S.N., Sonenberg N.* Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? // *Nat. Reviews Genet*. 2008. V. 9. № 2. P. 102–114.  
<https://doi.org/10.1038/nrg2290>
  42. *Bartel D.P.* MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // *Cell*. 2004. V. 116. № 2. P. 281–297.  
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)
  43. *Jiao P., Yuan Y., Zhang M. et al.* PRL/microRNA-183/IRS1 pathway regulates milk fat metabolism in cow mammary epithelial cells // *Genes*. 2020. V. 11. № 2. P. 196.  
<https://doi.org/10.3390/genes11020196>
  44. *Li H.M., Wang C.M., Li Q.Z., Li X.J.* MiR-15a decreases bovine mammary epithelial cell viability and lactation and regulates growth hormone receptor expression // *Molecules*. 2012. V. 17. № 10. P. 12037–12048.  
<https://doi.org/10.3390/molecules171012037>
  45. *Sakamoto K., Komatsu T., Kobayashi T. et al.* Growth hormone acts on the synthesis and secretion of  $\alpha$ -casein in bovine mammary epithelial cells // *J. Dairy Research*. 2005. V. 72. № 3. P. 264–270.  
<https://doi.org/10.1017/S0022029905000889>
  46. *Bian Y., Lei Y., Wang C. et al.* Epigenetic regulation of miR-29s affects the lactation activity of dairy cow mammary epithelial cells // *J. Cellular Physiology*. 2015. V. 230. № 9. P. 2152–2163.  
<https://doi.org/10.1002/jcp.24944>
  47. *Wang M., Moisés S., Khan M.J. et al.* MicroRNA expression patterns in the bovine mammary gland are affected by stage of lactation // *J. Dairy Sci*. 2012. V. 95. № 11. P. 6529–6535.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2012-5748>
  48. *Kozomara A., Birgaoanu M., Griffiths-Jones S.* miRBase: from microRNA sequences to function // *Nucl. Acids Res*. 2019. V. 47. № D1. P. D155–D162.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>
  49. *Dysin A.P., Barkova O.Y., Pozovnikova M.V.* The role of microRNAs in the mammary gland development, health, and function of cattle, goats, and sheep // *Non-Coding RNA*. 2021. V. 7. № 4. P. 78.  
<https://doi.org/10.3390/nrna7040078>
  50. *Yang B., Jiao B., Ge W. et al.* Transcriptome sequencing to detect the potential role of long non-coding RNAs in bovine mammary gland during the dry and lactation period // *BMC Genomics*. 2018. V. 19. № 605. P. 1–14.  
<https://doi.org/10.1186/s12864-018-4974-5>
  51. *Williams M.M., Vaught D.B., Joly M.M. et al.* ErbB3 drives mammary epithelial survival and differentiation during pregnancy and lactation // *Breast Cancer Res*. 2017. V. 19. № 105. P. 1–14.  
<https://doi.org/10.1186/s13058-017-0893-7>
  52. *Qu S., Yang X., Li X. et al.* Circular RNA: A new star of noncoding RNAs // *Cancer Letters*. 2015. V. 365. № 2. P. 141–148.  
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.06.003>
  53. *Pamudurti N.R., Bartok O., Jens M. et al.* Translation of CircRNAs // *Mol. Cell*. 2017. V. 66. № 1. P. 9–21. E7.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.02.021>
  54. *Patop I.L., Wüst S., Kadener S.* Past, present, and future of circRNAs // *The EMBO J*. 2019. V. 38. № 16. P. e100836.  
<https://doi.org/10.15252/embj.2018100836>
  55. *He T., Chen Q., Tian K. et al.* Functional role of circRNAs in the regulation of fetal development, muscle development, and lactation in livestock // *BioMed Research Int*. 2021. V. 2021.  
<https://doi.org/10.1155/2021/5383210>
  56. *Liu J., Zhang M.L., Li D.W. et al.* Prolactin-responsive circular RNA circHIPK3 promotes proliferation of mammary epithelial cells from dairy cow // *Genes*.

2020. V. 11. № 3. P. 336.  
<https://doi.org/10.3390/genes11030336>
57. *Chen Z., Liang Y., Lu Q.Y. et al.* Cadmium promotes apoptosis and inflammation via the circ08409/miR-133a/TGFB2 axis in bovine mammary epithelial cells and mouse mammary gland // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021. V. 222. P. 112477.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112477>
58. *Bierne H., Hamon M., Cossart P.* Epigenetics and bacterial infections // *Cold Spring Harbor Perspectives in Med.* 2012. V. 2. № 12. P. a010272.  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010272>
59. *Ganguli S., Chakraborty R.* Bacterial epigenetics opens door to novel frontier in Infection Biology // *The Nucleus*. 2021. V. 64. № 3. P. 383–399.  
<https://doi.org/10.1007/s13237-021-00375-y>
60. *Grabiec A.M., Potempa J.* Epigenetic regulation in bacterial infections: targeting histone deacetylases // *Critical Rev. in Microbiology*. 2018. V. 44. № 3. P. 336–350.  
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1373063>
61. *Zabek T., Semik-Gurgul E., Ropka-Molik K. et al.* Locus-specific interrelations between gene expression and DNA methylation patterns in bovine mammary gland infected by coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci // *J. Dairy Sci.* 2020. V. 103. № 11. P. 10689–10695.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18404>
62. *Han S., Li X., Liu J. et al.* Bta-miR-223 targeting CBLB contributes to resistance to *Staphylococcus aureus* mastitis through the PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B pathway // *Frontiers in Veterinary Sci.* 2020. P. 529.  
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00529>
63. *Vanselow J., Yang W., Herrmann J. et al.* DNA-remethylation around a STAT5-binding enhancer in the  $\alpha$ S1-casein promoter is associated with abrupt shutdown of  $\alpha$ S1-casein synthesis during acute mastitis // *J. Mol. Endocrinology*. 2006. V. 37. № 3. P. 463–477.  
<https://doi.org/10.1677/jme.1.02131>
64. *Jin W., Ibeagha-Awemu E.M., Liang G. et al.* Transcriptome microRNA profiling of bovine mammary epithelial cells challenged with *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* bacteria reveals pathogen directed microRNA expression profiles // *BMC Genomics*. 2014. V. 15. № 181. P. 1–16.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-181>
65. *Pispa J., Thesleff I.* Mechanisms of ectodermal organogenesis // *Developmental Biol.* 2003. V. 262. № 2. P. 195–205.  
[https://doi.org/10.1016/S0012-1606\(03\)00325-7](https://doi.org/10.1016/S0012-1606(03)00325-7)
66. *Ha W.T., Jeong H.Y., Lee S.Y., Song H.* Effects of the insulin-like growth factor pathway on the regulation of mammary gland development // *Development & Reproduction*. 2016. V. 20. № 3. P. 179–185.  
<https://doi.org/10.12717/DR.2016.20.3.179>
67. *Rowson A.R., Daniels K.M., Ellis S.E., Hovey R.C.* Growth and development of the mammary glands of livestock: A veritable barnyard of opportunities // *Seminars in Cell & Developmental Biol. Acad. Press*. 2012. V. 23. № 5. P. 557–566.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2012.03.018>
68. *Capuco A.V., Akers R.M.* Management and environmental influences on mammary gland development and milk production // *Managing the Prenatal Environment to Enhance Livestock Productivity*. Dordrecht: Springer, 2009. P. 259–292.  
[https://doi.org/10.1007/978-90-481-3135-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3135-8_9)
69. *Sejrsen K.* Relationships between nutrition, puberty and mammary development in cattle // *Proc. Nutrition Society*. 1994. V. 53. № 1. P. 103–111.  
<https://doi.org/10.1079/PNS19940014>
70. *Veltmaat J.M., Veelen W.V., Thiery J.P., Bellusci S.* Identification of the mammary line in mouse by *Wnt10b* expression // *Developmental Dynamics: An Official Publ. Am. Association of Anatomists*. 2004. V. 229. № 2. P. 349–356.  
<https://doi.org/10.1002/dvdy.10441>
71. *Boras-Granic K., Wyslomerski J.J.* Wnt signaling in breast organogenesis // *Organogenesis*. 2008. V. 4. № 2. P. 116–122.  
<https://doi.org/10.4161/org.4.2.5858>
72. *Carroll L.S., Capecchi M.R.* Hoxc8 initiates an ectopic mammary program by regulating *Fgf10* and *Tbx3* expression and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling // *Development*. 2015. V. 142. № 23. P. 4056–4067.  
<https://doi.org/10.1242/dev.128298>
73. *Eblaghie M.C., Song S.J., Kim J.Y. et al.* Interactions between FGF and Wnt signals and *Tbx3* gene expression in mammary gland initiation in mouse embryos // *J. Anatomy*. 2004. V. 205. № 1. P. 1–13.  
<https://doi.org/10.1111/j.0021-8782.2004.00309.x>
74. *Slepicka P.F., Somasundara A.V.H., Dos Santos C.O.* The molecular basis of mammary gland development and epithelial differentiation // *Seminars in Cell & Developmental Biol. Acad. Press*. 2021. V. 114. P. 93–112.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.09.014>
75. *Cho K.W., Kim J.Y., Song S.J. et al.* Molecular interactions between *Tbx3* and *Bmp4* and a model for dorsoventral positioning of mammary gland development // *PNAS*. 2006. V. 103. № 45. P. 16788–16793.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0604645103>
76. *Cho K.W., Kwon H.J., Shin J.O. et al.* Retinoic acid signaling and the initiation of mammary gland development // *Developmental Biol.* 2012. V. 365. № 1. P. 259–266.  
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.02.020>
77. *Kogata N., Oliemuller E., Wansbury O., Howard B.A.* *Neuregulin-3* regulates epithelial progenitor cell positioning and specifies mammary phenotype // *Stem Cells and Development*. 2014. V. 23. № 22. P. 2758–2770.  
<https://doi.org/10.1089/scd.2014.0082>
78. *Lee M.Y., Sun L., Veltmaat J.M.* Hedgehog and gli signaling in embryonic mammary gland development // *J. Mammary Gland Biol. and Neoplasia*. 2013. V. 18. № 2. P. 133–138.  
<https://doi.org/10.1007/s10911-013-9291-7>
79. *Kazemi H.* Mining the genome of livestock species to identify markers associated with economically relevant morphological traits and breed-specific features // *Diss. Thesis*. 2021. 125 p.  
<https://doi.org/10.48676/unibo/amsdottorato/9688>
80. *Asselin-Labat M.L., Sutherland K.D., Barker H. et al.* Gata-3 is an essential regulator of mammary-gland morphogenesis and luminal-cell differentiation // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. № 2. P. 201–209.  
<https://doi.org/10.1038/ncb1530>



81. *Hiremath M., Dann P., Fischer J. et al.* Parathyroid hormone-related protein activates Wnt signaling to specify the embryonic mammary mesenchyme // *Development*. 2012. V. 139. № 22. P. 4239–4249. <https://doi.org/10.1242/dev.080671>
82. *Tickle C., Jung H.S.* Embryonic Mammary Gland Development Ltd. Chichester: John Wiley & Sons, 2016. 10 p. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0026057>
83. *Hiremath M., Wysolmerski J.* Role of PTHrP in mammary gland development and breast cancer // *Clin. Rev. in Bone and Mineral Metabolism*. 2014. V. 12. № 3. P. 178–189. <https://doi.org/10.1007/s12018-014-9170-9>
84. *Denicol A.C., Dobbs K.B., McLean K.M. et al.* Canonical WNT signaling regulates development of bovine embryos to the blastocyst stage // *Sci. Reports*. 2013. V. 3. № 1266. P. 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep01266>
85. *Boras-Granic K., Chang H., Grosschedl R., Hamel P.A.* Lef1 is required for the transition of Wnt signaling from mesenchymal to epithelial cells in the mouse embryonic mammary gland // *Developmental Biol*. 2006. V. 295. № 1. P. 219–231. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.03.030>
86. *Lindvall C., Zylstra C.R., Evans N. et al.* The Wnt co-receptor Lrp6 is required for normal mouse mammary gland development // *PLoS One*. 2009. V. 4. № 6. P. e5813. <https://doi.org/10.1371/J..pone.0005813>
87. *Ahn Y., Sims C., Logue J.M. et al.* Lrp4 and Wise interplay controls the formation and patterning of mammary and other skin appendage placodes by modulating Wnt signaling // *Development*. 2013. V. 140. № 3. P. 583–593. <https://doi.org/10.1242/dev.085118>
88. *Yanagita M., Oka M., Watabe T. et al.* USAG-1: A bone morphogenetic protein antagonist abundantly expressed in the kidney // *Biochem. Biophys. Res. Communications*. 2004. V. 316. № 2. P. 490–500. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.02.075>
89. *Itasaki N., Hoppler S.* Crosstalk between Wnt and bone morphogenic protein signaling: A turbulent relationship // *Dev. Dynamics: An Official Publ. Am. Association Anatomists*. 2010. V. 239. № 1. P. 16–33. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22009>
90. *Gurgul A., Jasielczuk I., Semik-Gurgul E. et al.* Diverifying selection signatures among divergently selected subpopulations of Polish Red cattle // *J. Applied Genet*. 2019. V. 60. № 1. P. 87–95. <https://doi.org/10.1007/s13353-019-00484-0>
91. *Gordon M.D., Nusse R.* Wnt signaling: Multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors // *J. Biol. Chem*. 2006. V. 281. № 32. P. 22429–22433. <https://doi.org/10.1074/jbc.R600015200>
92. *Niehrs C.* Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators // *Oncogene*. 2006. V. 25. № 57. P. 7469–7481. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210054>
93. *Hens J., Dann P., Hiremath M. et al.* Analysis of gene expression in PTHrP–/– mammary buds supports a role for BMP signaling and MMP2 in the initiation of ductal morphogenesis // *Dev. Dynamics: An Official Publ. Am. Association Anatomists*. 2009. V. 238. № 11. P. 2713–2724. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22097>
94. *Heckman B.M., Chakravarty G., Vargo-Gogola T. et al.* Crosstalk between the p190-B RhoGAP and IGF signaling pathways is required for embryonic mammary bud development // *Developmental Biol*. 2007. V. 309. № 1. P. 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.07.002>
95. *Knabel M., Kölle S., Sinowatz F.* Expression of growth hormone receptor in the bovine mammary gland during prenatal development // *Anatomy and Embryology*. 1998. V. 198. № 2. P. 163–169. <https://doi.org/10.1007/s004290050174>
96. *Speroni L., Voutilainen M., Mikkola M.L. et al.* New insights into fetal mammary gland morphogenesis: differential effects of natural and environmental estrogens // *Sci. Rep*. 2017. V. 7. № 40806. P. 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep40806>
97. *Briskin C., O'Malley B.* Hormone action in the mammary gland // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biol*. 2010. V. 2. № 12. P. a003178. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003178>
98. *Gu B., Sun P., Yuan Y. et al.* Pygo2 expands mammary progenitor cells by facilitating histone H3 K4 methylation // *J. Cell Biol*. 2009. V. 185. № 5. P. 811–826. <https://doi.org/10.1083/jcb.200810133>
99. *Lee M.J., Yoon K.S., Cho K.W. et al.* Expression of miR-206 during the initiation of mammary gland development // *Cell and Tissue Res*. 2013. V. 353. № 3. P. 425–433. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1653-3>
100. *Lee J.M., Cho K.W., Kim E.J. et al.* A contrasting function for miR-137 in embryonic mammaryogenesis and adult breast carcinogenesis // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 26. P. 22048–22059. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4218>
101. *Sejrsen K., Huber J.T., Tucker H.A.* Influence of amount fed on hormone concentrations and their relationship to mammary growth in heifers // *J. Dairy Sci*. 1983. V. 66. № 4. P. 845–855. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81866-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81866-9)
102. *Geiger A.J.* The pre-pubertal bovine mammary gland: unlocking the potential of the future herd // *Animal*. 2019. V. 13. № S1. P. s4–s10. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001204>
103. *Choudhary R.K.* Identification and Characterization of Presumptive Bovine Mammary Stem Cells. College Park, Univ. Maryland, 2011. 112 p.
104. *Capuco A.V., Ellis S.* Bovine mammary progenitor cells: Current concepts and future directions // *J. Mammary Gland Biol. and Neoplasia*. 2005. V. 10. № 1. P. 5–15. <https://doi.org/10.1007/s10911-005-2536-3>
105. *Yart L., Lollivier V., Marnet P.G., Dessauge F.* Role of ovarian secretions in mammary gland development and function in ruminants // *Animal*. 2014. V. 8. № 1. P. 72–85. <https://doi.org/10.1017/S1751731113001638>

106. *McNally S., Martin F.* Molecular regulators of pubertal mammary gland development // *Annals Med.* 2011. V. 43. № 3. P. 212–234.  
<https://doi.org/10.3109/07853890.2011.554425>
107. *Daniels K.M., Capuco A.V., McGilliard M.L. et al.* Effects of milk replacer formulation on measures of mammary growth and composition in Holstein heifers // *J. Dairy Sci.* 2009. V. 92. № 12. P. 5937–5950.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2008-1959>
108. *Hovey R.C., Trott J.F., Vonderhaar B.K.* Establishing a framework for the functional mammary gland: From endocrinology to morphology // *J. Mammary Gland Biol. and Neoplasia.* 2002. V. 7. № 1. P. 17–38.  
<https://doi.org/10.1023/A:1015766322258>
109. *Sinha Y.N., Tucker H.A.* Mammary development and pituitary prolactin level of heifers from Birth through puberty and during the estrous cycle // *J. Dairy Sci.* 1969. V. 52. № 4. P. 507–512.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86595-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86595-1)
110. *Костомахин Н., Самойленко Т.* Зависимость молочной продуктивности коров от их возраста и живой массы при первом осеменении // *Корма и кормление.* 2008. № 11. С. 15–18.
111. *Akers R.M.* Lactation and the Mammary Gland // *Protoplasma.* 2016. V. 159. P. 96–111.  
<https://doi.org/10.1002/9781119264880>
112. *Howlin J., McBryan J., Martin F.* Pubertal mammary gland development: Insights from mouse models // *J. Mammary Gland Biol. and Neoplasia.* 2006. V. 11. № 3. P. 283–297.  
<https://doi.org/10.1007/s10911-006-9024-2>
113. *Dahl G.E.* Physiology of lactation in dairy cattle—challenges to sustainable production // *Animal Agriculture.* Acad. Press, 2020. P. 121–129.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817052-6.00007-0>
114. *Кузьмич Р.Г., Рубанец Л.Н., Гарбузов А.А. Юшковский Е.А.* Болезни яичников и яйцеводов у коров // *Уч.-мет. пособие для студентов ф-та ветер. мед. и слушателей ФПК и ПК.* Витебск, 2017. 56 с.
115. *Mallepell S., Krust A., Chambon P., Briskin C.* Paracrine signaling through the epithelial estrogen receptor  $\alpha$  is required for proliferation and morphogenesis in the mammary gland // *PNAS.* 2006. V. 103. № 7. P. 2196–2201.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0510974103>
116. *Fata J.E., Chaudhary V., Khokha R.* Cellular turnover in the mammary gland is correlated with systemic levels of progesterone and Not 17 $\beta$ -Estradiol during the estrous cycle // *Biol. Reproduction.* 2001. V. 65. № 3. P. 680–688.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod65.3.680>
117. *Capuco A.V., Ellis S., Wood D.L. et al.* Postnatal mammary ductal growth: three-dimensional imaging of cell proliferation, effects of estrogen treatment, and expression of steroid receptors in prepubertal calves // *Tissue and Cell.* 2002. V. 34. № 3. P. 143–154.  
[https://doi.org/10.1016/S0040-8166\(02\)00024-1](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(02)00024-1)
118. *Meyer M.J., Capuco A.V., Boisclair Y.R., Van Amburgh M.E.* Estrogen-dependent responses of the mammary fat pad in prepubertal dairy heifers // *J. Endocrinology.* 2006. V. 190. № 3. P. 819–827.  
<https://doi.org/10.1677/joe.1.06883>
119. *Connor E.E., Wood D.L., Sonstegard T.S. et al.* Chromosomal mapping and quantitative analysis of estrogen-related receptor alpha-1, estrogen receptors alpha and beta and progesterone receptor in the bovine mammary gland // *J. Endocrinology.* 2005. V. 185. № 3. P. 593–603.  
<https://doi.org/10.1677/joe.1.06139>
120. *Wallace C.* Observations on mammary development in calves and lambs // *The J. Agricultural Sci.* 1953. V. 43. № 4. P. 413–421.  
<https://doi.org/10.1017/S0021859600057890>
121. *Purup S., Sejrnsen K., Foldager J., Akers R.M.* Effect of exogenous bovine growth hormone and ovariectomy on prepubertal mammary growth, serum hormones and acute *in vitro* proliferative response of mammary explants from Holstein heifers // *J. Endocrinology.* 1993. V. 139. № 1. P. 19–26.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1390019>
122. *Berry S.D.K., Jobst P.M., Ellis S.E. et al.* Mammary epithelial proliferation and estrogen receptor  $\alpha$  expression in prepubertal heifers: Effects of ovariectomy and growth hormone // *J. Dairy Sci.* 2003. V. 86. № 6. P. 2098–2105.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73799-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73799-0)
123. *Ballagh S.D.K., Jobst P.M., Ellis S.E. et al.* Hot topic: Prepubertal ovariectomy alters the development of myoepithelial cells in the bovine mammary gland // *J. Dairy Sci.* 2008. V. 91. № 8. P. 2992–2995.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2008-1191>
124. *Sud S.C., Tucker H.A., Meites J.* Estrogen-progesterone requirements for udder development in ovariectomized heifers // *J. Dairy Sci.* 1968. V. 51. № 2. P. 210–214.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(68\)86954-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(68)86954-1)
125. *Woodward T.L., Beal W.E., Akers R.M.* Cell interactions in initiation of mammary epithelial proliferation by oestradion and progesterone in prepubertal heifers // *J. Endocrinology.* 1993. V. 136. № 1. P. 149–157.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1360149>
126. *Li R.W., Meyer M.J., Van Tassell C.P. et al.* Identification of estrogen-responsive genes in the parenchyma and fat pad of the bovine mammary gland by microarray analysis // *Physiol. Genomics.* 2006. V. 27. № 1. P. 42–53.  
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00032.2006>
127. *Purup S., Sejrnsen K., Akers R.M.* Effect of bovine GH and ovariectomy on mammary tissue sensitivity to IGF-I in prepubertal heifers // *J. Endocrinology.* 1995. V. 144. № 1. P. 153–158.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1440153>
128. *Silva L.F.P., Liesman J.S., Etchebarne B.E. et al.* Intramammary infusion of IGF-I increases bromodeoxyuridine labeling in mammary epithelial cells of prepubertal heifers // *J. Dairy Sci.* 2005. V. 88. № 8. P. 2771–2773.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72956-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72956-8)
129. *Greenwood P.L., Bell A.W., Vercoe P.E., Viljoen G.J.* Managing the Prenatal Environment to Enhance Livestock Productivity. Netherlands: Springer, 2010. № 636.0824 GREM.  
<https://doi.org/10.1007/978-90-481-3135-8>
130. *Purup S., Vestergaard M., Sejrnsen K.* Involvement of growth factors in the regulation of pubertal mammary growth in cattle // *Biol. Mammary Gland.* 2002.

- V. 480. P. 27–43.  
[https://doi.org/10.1007/0-306-46832-8\\_4](https://doi.org/10.1007/0-306-46832-8_4)
131. *Roith D.L.* The insulin-like growth factor system // *Exp. Diabetes Research*. 2003. V. 4. № 4. P. 205–212.  
<https://doi.org/10.1155/EDR.2003.205>
132. *Berry S.D., McFadden T.B., Pearson R.E., Akers R.M.* A local increase in the mammary IGF-1: IGFBP-3 ratio mediates the mammogenic effects of estrogen and growth hormone // *Domestic Animal Endocrinol.* 2001. V. 21. № 1. P. 39–53.  
[https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(01\)00101-1](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(01)00101-1)
133. *Plath A., Einspanier R., Peters F. et al.* Expression of transforming growth factors alpha and beta-1 messenger RNA in the bovine mammary gland during different stages of development and lactation // *J. Endocrinology*. 1997. V. 155. P. 501–511.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1550501>
134. *Sivaprasad U., Fleming J., Verma P.S. et al.* Stimulation of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 synthesis by IGF-I and transforming growth factor- $\alpha$  is mediated by both phosphatidylinositol-3 kinase and mitogen-activated protein kinase pathways in mammary epithelial cells // *Endocrinology*. 2004. V. 145. № 9. P. 4213–4221.  
<https://doi.org/10.1210/en.2003-1377>
135. *Booth B.W., Boulanger C.A., Anderson L.H. et al.* Amphiregulin mediates self-renewal in an immortal mammary epithelial cell line with stem cell characteristics // *Exp. Cell Res.* 2010. V. 316. № 3. P. 422–432.  
<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.11.006>
136. *Kouros-Mehr H., Slorach E.M., Sternlicht M.D., Werb Z.* GATA-3 maintains the differentiation of the luminal cell fate in the mammary gland // *Cell*. 2006. V. 127. № 5. P. 1041–1055.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.048>
137. *Pietersen A.M., Evers B., Prasad A.A. et al.* Bmi1 regulates stem cells and proliferation and differentiation of committed cells in mammary epithelium // *Current Biol.* 2008. V. 18. № 14. P. 1094–1099.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.070>
138. *Huang D.W., Sherman B.T., Tan Q. et al.* DAVID Bioinformatics resources: Expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists // *Nucl. Acids. Res.* 2007. V. 35. Suppl. 2. P. W169–W175.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkm415>
139. *Li W., Li C., Lu J., Zhao W.* MiR-145 is involved in the proliferation of bovine mammary epithelial cells and regulates bovine insulin receptor substrate 1 // *Italian J. Animal Sci.* 2020. V. 19. № 1. P. 536–543.  
<https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1732234>
140. *Ucar A., Vafaizadeh V., Jarry H. et al.* miR-212 and miR-132 are required for epithelial stromal interactions necessary for mouse mammary gland development // *Nat. Genet.* 2010. V. 42. № 12. P. 1101–1108.  
<https://doi.org/10.1038/ng.709>
141. *Wicik Z., Gajewska M., Majewska A. et al.* Characterization of microRNA profile in mammary tissue of dairy and beef breed heifers // *J. Animal Breeding and Genet.* 2016. V. 133. № 1. P. 31–42.  
<https://doi.org/10.1111/jbg.12172>

## Molecular-Genetic Bases of Mammary Gland Development on the Example of Cattle and Other Animal Species. I. Embryonic and Pubertal Developmental Stage

E. V. Solodneva<sup>a, \*</sup>, S. B. Kuznetsov<sup>a</sup>, A. E. Velieva<sup>b</sup>, and Yu. A. Stolpovsky<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

<sup>b</sup>*University of Pennsylvania, School of Engineering and Applied Sciences, Philadelphia, PA, 19104 USA*

\*e-mail: [eugenia.575.2012@yandex.ru](mailto:eugenia.575.2012@yandex.ru)

The growing demand of society for the products of farm animals necessitates the constant modernization of breeding programs. In order to improve the accuracy of genomic assessment of breeding value, models that allow taking into account information on the contribution of specific polymorphic loci to the formation of economically useful traits of interest have been recently used. Taking into account the functional role of the genes responsible for the formation of the mammary gland is important to improve the reliability of the prognosis of milk production. This review describes the molecular genetic basis for the development of the mammary gland at the embryonic, prepubertal and pubertal stages of development using the example of cattle and some other mammals. Particular attention is paid to epigenetic regulation. Data on genetics, morphophysiology, endocrinology and the influence of microorganisms at different stages of mammary gland development are presented.

**Keywords:** cattle, mammary gland, genomic selection, epigenetic regulation, morphogenesis, local breeds.