

# Gen dehydrogenazy mleczanowej-A wyznacznikiem dzielności lotowej gołębia pocztowego?

ANDRZEJ DYBUS, JACEK PIJANKA, IWONA SZATKOWSKA, SŁAWOMIR ZYCH

Zakład Cytogenetyki Molekularnej Katedry Nauk o Zwierzętach Przeżuwających  
Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Doktora Judyma 12, 71-460 Szczecin

Dybus A., Pijanka J., Szatkowska I., Zych S.

## LDH-A gene as an indicator of the flight efficiency of homing pigeons

### Summary

Homing pigeon flights are exciting sport for millions of breeders all over the world. The natural goal of a breeder is to obtain birds which will achieve top places in competition flights. The identification of genes which influence the homing ability of racing pigeons is essential in breeding these birds for sporting purposes. Lactate conversion in their organisms is a complex problem. Oxidation of lactate in skeletal muscles is one of the ways it is utilized. These processes may influence the velocity and physical endurance of pigeons during many-hour long flights; variations in the structure of the LDH-A gene can diversify these traits in racing pigeons.

**Keywords:** lactate dehydrogenate, homing ability, homing (racing) pigeon

Loty gołębi pocztowych są pasjonującym sportem dla milionów hodowców na całym świecie. Naturalnym dążeniem jest wyhodowanie osobników osiągających czołowe lokaty w lotach konkursowych, cechujących się wysoką dzielnością lotową. Identyfikacja genów wpływających na dzielność lotową gołębia pocztowego może mieć ogromne znaczenie dla hodowli tego ptaka w celach sportowych. Pozwoli ukierunkować selekcję na utrwalenie korzystnych dla danej cechy genotypów oraz wyeliminować lub zmniejszyć frekwencje genotypów mających wpływ negatywny. Procesy biochemiczne i fizjologiczne zachodzące w organizmie kontrolowane są m.in. przez enzymy. Ich budowa, a w związku z tym pełnione funkcje, determinowane są genetycznie. Zmienność alleliczna w obrębie genów kodujących te białka może przekładać się na ich funkcjonowanie, różnicując tym samym fenotypy zwierząt.

### Ogólna charakterystyka dehydrogenazy mleczanowej

Dehydrogenaza mleczanowa (LDH, 1.1.1.27) katalizuje przemiany pirogronianu i mleczanu, regulując ponadto metabolizm tych związków w komórkach. Enzym ten jest tetramerem zbudowanym z dwóch rodzajów podjednostek (A i B), o masie około 35 kDa. Łańcuchy polipeptydowe tworzą pięć rodzajów tetramerów dehydrogenazy: B4, B3A1, B2A2, B1A3, A4 (54). U ssaków i ptaków z rodziny gołębi (*Columbidae*) odkryto trzy rodzaje izozymów dehydrogenazy mleczanowej: LDH-A (mięśnie), LDH-B (serce) oraz LDH-C (jądra, nasienie). Sekwencje izozymów (poprzez bezpośrednie sekwencjonowanie białka i/lub

analizę cDNA) ustalono m.in. u człowieka, myszy, szczura i świni (31, 38, 43, 52). Opracowano także strukturę pierwszorzędową LDH-A, LDH-B i LDH-C gołębia domowego (34).

Łańcuch polipeptydowy LDH składa się z dwóch domen. Jedna z nich przyłącza  $\text{NAD}^+$ , druga jest domeną katalityczną. Domena wiążąca  $\text{NAD}^+$  dzieli się na dwa regiony – przyłączający pierścień adeninowy oraz wiążący amid kwasu nikotynowego. Adenina cząsteczki  $\text{NAD}^+$  wiązana jest w szczelinie hydrofobowej. Jednostka amidu kwasu nikotynowego przyłączana jest w taki sposób, by reagująca strona pierścienia znajdowała się w środowisku polarnym, natomiast pozostałe części miały kontakt z hydrofobowymi resztami enzymu. Koniec  $-\text{COOH}$  ma podobną strukturę drugorzędową jak domena katalityczna. Jego funkcją jest stabilizowanie struktury cząsteczki LDH. Region pętli łańcucha polipeptydowego LDH zawiera argininę w pozycji 98, która wiąże się z grupą pirofosforanową  $\text{NAD}^+$  i argininą w pozycji 105, reagującą z substratem (21, 31).

Białko LDH-A myszy, w porównaniu z białkiem świni, różni się 19 aminokwasami (6%), 14 z tych substytucji znajduje się na powierzchni cząsteczki i wydaje się, że nie ma to bezpośredniego wpływu na przyłączenie  $\text{NAD}^+$ , jak również substratu. Dla kontrastu, sekwencja LDH-A myszy różni się 81 (24%) aminokwasami w porównaniu z białkiem LDH-B świni oraz 97 (30%) aminokwasami w porównaniu z LDH-C myszy. Wyniki te wskazywałyby, że izozymy somatyczne LDH-A4 i LDH-B4 są bliżej ze sobą spokrewnione niż z izozymem jądrowym LDH-C4 (17, 30).

Początkowo sądzono, że dehydrogenaza mleczanowa obecna jest wyłącznie w cytoplazmie (11), później odkryto jednak, że związana jest z takimi strukturami komórkowymi jak mikrofilamenty aktynowe oraz mitochondria (13, 32). Badania z użyciem przeciwciał przeciwko LDH 1 i LDH 5 wykazały ich obecność w cytoplazmie, miofibrylach i mitochondriach (5). Izozym B4 (typ 1) wykazuje zdecydowanie większe powinowactwo do substratów niż izozym A4 (typ 5) (48). Izozymy te różnią się również tym, iż B4 podlega allosterycznej inhibicji przez duże stężenie pirogronianu, natomiast A4 – nie. Pozostałe izozymy wykazują pośrednie powinowactwo do pirogronianu, zależne od stosunku obu rodzajów łańcuchów w tetramerycznej cząsteczce LDH. Uważa się, że rola izozymu B4 polega na utlenieniu mleczanu do pirogronianu, który wykorzystywany jest następnie przez mięsień sercowy jako materiał energetyczny. Procesy aerobowe zachodzące w mięśniu sercowym pozwalają na przepływ pirogronianu do cyklu kwasu cytrynowego. Forma izozymu A4 zaangażowana jest natomiast w przekształcenia biegnące w odwrotnym kierunku (od pirogronianu do mleczanu), ułatwiając przebieg glikolizy w warunkach anaerobowych (10).

Badania nad produkcją mleczanu w mięśniach szkieletowych prowadzone są od prawie dwóch stuleci, lecz nadal wiele zagadnień dotyczących jego syntezy i funkcji jest przedmiotem dyskusji (28, 54). Mleczan przez wielu autorów uważany jest nadal za końcowy produkt metabolizmu, a jego usuwanie z organizmu odbywa się wyłącznie przez wątrobę na drodze glukoneogenezy. Już na początku ubiegłego wieku zauważono jednak, iż produkcja mleczanu związana jest z aktywnością mięśni, ale także, iż mięśnie posiadają mechanizm chemiczny jego usuwania (19). W późniejszych latach wykazano, że spadek stężenia kwasu mlekowego we krwi był wyższy w czasie pracy mięśni niż ich spoczynku (25). Następne badania dowiodły, że w czasie ćwiczeń mleczan był pobierany przez mięśnie, które nie brały w nich udziału (1, 7). Mięśnie szkieletowe pobierały kwas mlekowy i częściowo go utleniały (15). W innych badaniach wykazano, że mięśnie szkieletowe odgrywały ważną rolę nie tylko w produkcji mleczanu, lecz także w jego usuwaniu z obiegu oraz że związek ten może być ważnym substratem w oddychaniu wewnątrzkomórkowym (54). Co więcej, u ssaków mleczan wydaje się bardziej efektywnym prekursorom w glikogenogenezie niż glukoza (4).

Wydaje się, że utlenianie mleczanu, oprócz przyjętego do tej pory modelu, polegającego na jego odwodowaniu przez cytoplazmatyczny LDH do pirogronianu, a następnie transporcie do mitochondriów w celu właściwej oksydacji, zachodzi według innego mechanizmu, tzw. bezpośredniej oksydacji. Opiera się on na założeniach, że mitochondria posiadają własne zasoby LDH (49). Zgodnie z tym nurtem badawczym zaproponowany został mechanizm wewnątrzkomórkowego transportu mleczanu (5). Powstający w cytoplaz-

mie mleczan transportowany jest do wnętrza mitochondrium za pomocą białek przenośnikowych MCT (Monocarboxylate Transporter), które występują w kilku izoformach, a oprócz mleczanu przenoszą również pirogronian i ciała ketonowe (26). Ważnym argumentem, że związek ten może być istotnym substratem w oddychaniu mitochondrialnym jest fakt, iż jest on przenoszony do wnętrza mitochondrium w znacznie większych ilościach niż pirogronian (5). Istnieją jednak głosy sceptycznie odnoszące się do obecności LDH w mitochondrium. W izolowanych z mięśni szkieletowych człowieka mitochondriach zaobserwowano niskie tempo utleniania mleczanu oraz brak wpływu tego zjawiska na syntezę ATP. Poziom utleniania wzrastał natomiast po dostarczeniu LDH lub frakcji cytozolicznej (39).

Duży wpływ na wydajność syntezy i usuwania mleczanu ma aktywność ruchowa zwierząt, co związane jest ze zmianami ekspresji LDH i proporcji izozymów w mięśniach. Gołębie pocztowe wykazują dużą zmienność aktywności enzymu, jego ilości we krwi oraz profilu izozymów w zależności od zastosowanego treningu. Aerobowe formy LDH (B4 i AB3), katalizujące przemianę mleczanu w pirogronian, przeważały w mięśniach ptaków dalekodystansowych, co potwierdza ich mniejszą zależność od glikolizy. Mała aktywność ruchowa lub jej brak powodują wzrost aktywności podstawowych enzymów glikolitycznych i form anaerobowych izozymów LDH (A3B i A4) oraz spadek form aerobowych (AB3 i B4). Ptaki dalekodystansowe posiadały najwyższy poziom LDH we krwi oraz najkrótszy czas półtrwania mleczanu po ćwiczeniach – stanowił on 47% tego czasu u zwierząt nielotownych (8). Podobne zjawiska zaobserwowano w licznych badaniach na sportowcach. Obserwowano spadek aktywności LDH oraz towarzyszące temu istotne zmiany udziału izoenzymów aerobowych u biegaczy długodystansowych i maratończyków (2). Wzrost anaerobowych form LDH oraz spadek aerobowych stwierdzono u sprinterów (6). Zmiany profilu izozymów dehydrogenazy mleczanowej w odpowiedzi na zróżnicowany rodzaj treningu zachodzą w podobny sposób również u koni (16).

### Struktura i charakterystyka genu LDH-A

Organizację genu LDH-A opisano po raz pierwszy u myszy i człowieka (9, 31); następnie określono organizację ludzkich genów LDH-B i LDH-C (50, 51). Gen LDH-A myszy zmapowano na chromosomie 7 (47), człowieka na krótkim ramieniu chromosomu 11 (29). Kompletna sekwencja genu LDH-A myszy obejmuje 12 851 par zasad (pz) i składa się z siedmiu eksonów, rozdzielonych intronami (21, 31). Eksony posiadają zbliżone rozmiary, natomiast długość intronów jest zróżnicowana w szerokim zakresie. Struktura genu LDH-A człowieka jest zbliżona do genu myszy, eksony posiadają długość 126, 118, 174, 176, 118, 124 i 162 pz, introny położone są w analogicznych

pozycjach jak w genie myszy (33). Długość sekwencji cDNA genu LDH-A gołębia wynosi: sekwencja kodująca białko – 996 nukleotydów, sekwencje nie ulegające translacji: część 5' – 40 nukleotydów, 3' – 605 nukleotydów (34).

Zadziwiającym odkryciem jest fakt, iż eksony kodujące domeny różniące się funkcjami nie są rozdzielone intronem. Fragment genu kodujący domenę przyłączającą NAD<sup>+</sup> jest przedzielony intronem (drugim) na dwa regiony – wiążący pierścień adeninowy oraz amid kwasu nikotynowego. One z kolei zawierają także introny, odpowiednio pierwszy i trzeci (9, 20, 31). Ewolucyjnie geny LDH-A, LDH-B i LDH-C wywodzą się od wspólnego przodka. Badania filogenetyczne dowiodły, że w przeciwieństwie do ssaków, gen LDH-C gołębia jest blisko spokrewniony z genem LDH-B (34). Wyniki te, jak również bliski związek *loci* obu tych genów (55), potwierdzałyby wcześniejsze doniesienia, iż gen LDH-C gołębia powstał przez duplikację genu LDH-B (22). Związek ten występuje jednak wyłącznie u ptaków z rodzaju *Columba* (36).

### Budowa promotora genu LDH-A

Sekwencja promotora LDH-A obejmuje obszar od –1173 do +25 nukleotydu. Istnieje duże podobieństwo pomiędzy sekwencjami promotorowymi genów LDH-A myszy i szczura (21, 45). Analiza sekwencji flankującej 5' genu ujawniła obecność kilku miejsc wiązania dla różnych czynników transkrypcyjnych, a także innych elementów regulacyjnych, między innymi: aktywatora białkowego AP-1 (w pozycji –295/–289 zawierające motyw 5'-TGAGTCT-3'), Sp1 w pozycjach –141/–139 oraz –103/–98 (motyw 5'-CCGCCCC-3'), element odpowiedzi na cAMP CRE (cAMP Response Element) w pozycji –48/–41 (z motywem 5'-TGACGTCA-3') (45). W sąsiedztwie miejsca CRE (w pozycji –93/–50 pz) wykazano istnienie regionu odpowiedzi na niedotlenienie HRE (Hypoxia Response Element), składającego się z dwóch miejsc przyłączania czynników transkrypcyjnych, w tym jedno miejsce wiążące czynnik HIF1 (Hypoxia-Inducible Factor 1) z motywem 5'-RCGTG-3' (18, 44). Sekwencja TATA genu LDH-A ma postać 5'-TTTAA-3' i występuje w pozycji –27/–22. Przypuszcza się, że w rejonie –1173/–830 genu LDH-A występuje sekwencja wycisząca transkrypcję (45).

### Regulacja ekspresji genu LDH-A

Dehydrogenaza mleczanowa posiada szereg izozymów, których ekspresja zależna jest od rodzaju tkanki oraz aktualnych warunków fizjologicznych. Istnieją dwa podstawowe mechanizmy kontroli ekspresji genu LDH-A. Jednym z nich jest kontrola transkrypcji (jej indukcja, wzmacnianie oraz wyciszenie) zachodząca w obrębie obszarów regulatorowych genu w interakcji z różnymi czynnikami transkrypcyjnymi. Drugi, zachodzący na późniejszym etapie ekspresji, obejmuje regulację stabilności mRNA, wpływając tym samym

na okres jego półtrwania. Gen LDH-A należy do grupy genów, których ekspresja regulowana jest przy pomocy szlaku sygnałowego cAMP, oddziałującego na oba mechanizmy ekspresji (45). Sekwencją docelową szlaku sygnałowego cAMP w regulacji na poziomie transkrypcji jest element odpowiedzi na cAMP – CRE. Jest to 8 nukleotydowa sekwencja wiążąca białko o masie 43 kDa, znane jako białko wiążące element odpowiedzi na cAMP – CREB (CRE-Binding Protein) (42). Cykliczny AMP jest wewnątrzkomórkowym informatorem drugiego rzędu, aktywującym kinazę białkową A (Protein Kinase A). Enzym ten, poprzez fosforylację białka CREB, aktywuje go jako czynnik transkrypcyjny (41). Dla przykładu, komórki glejaka szczura w czasie inkubacji z izoprotenerolem i dimaślanem cAMP, wykazywały kilkukrotny wzrost szybkości ekspresji genu LDH-A (12).

Istotnym stanem wzmagającym syntezę LDH-A w organizmie jest deficyt tlenu. Czynniki HIF1, indukujący transkrypcję w warunkach niedotlenienia, ma powinowactwo do sekwencji HRE, występującej w obrębie promotorów wielu genów, m.in.: erytropoetyny oraz LDH-A (44). Nie wywołuje on jednak żadnej reakcji w przypadku LDH-A przy braku aktywnego regionu CRE, co potwierdza współdziałanie między tymi czynnikami w odpowiedzi na niedotlenienie (18). Ekspresja LDH-A zachodzi również w komórkach Sertoliego. Jednym z czynników wpływających na syntezę mleczanu w spermatogenezie jest naskórkowy czynnik wzrostu (Epidermal Growth Factor), który wpływa na syntezę tego związku poprzez zwiększenie poboru glukozy przez komórki Sertoliego, co w konsekwencji indukuje transkrypcję genu LDH-A (37). Wzrost mRNA stymulowany przez EGF obserwowano również w innych typach komórek, np. w hodowanych *in vitro* fibroblastach szczura (35). Oprócz EGF, na syntezę mleczanu w komórkach Sertoliego wpływają także: folitropina (FSH) oraz czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$  – Tumor Necrosis Factor). FSH aktywuje szlak kinazy białkowej A (PKA, Protein Kinase A) poprzez wzrost stężenia cAMP w komórce oraz zwiększa znacznie stabilność transkryptu LDH-A. Szczegółowy mechanizm działania TNF- $\alpha$  nie został do tej pory całkowicie wyjaśniony, wiadomo, że opiera się on przynajmniej na dwóch szlakach – kinazy białkowej C (PKC, Protein Kinase C) oraz na hydrolizie sfingomieliny błony komórkowej. Ten ostatni prowadzi do wytworzenia ceramidu aktywującego odpowiednią kinazę białkową (3, 14). Komórki glejaka szczura stymulowane aktywatorami PKC, takimi jak diacyloglicerol (DG) oraz ester forbolu wykazywały 3–4-krotny wzrost zawartości mRNA genu LDH-A. Jako miejsce docelowe działania czynników szlaku PKC wskazuje się sekwencje wiązania dla AP-1 (aktywator białkowy) oraz receptor hormonów tarczycy TRE w pozycji 294 pz genu (24).

Stabilność mRNA jest bardzo istotnym czynnikiem w regulacji ekspresji genów. Okres półtrwania mRNA

LDH-A jest stosunkowo krótki, wynosi około 45-55 minut. Za stabilność transkryptu wydają się odpowiedzialne pewne sekwencje i struktury bogate w zasady AU, występujące na końcu 3' mRNA. Traktowanie komórek *in vitro* aktywatorami PKA i PKC spowodowało odpowiednio 9- i 4-krotny wzrost okresu półtrwania mRNA genu LDH-A (23). Ciekawym zagadnieniem jest fakt, że dwa główne szlaki sygnałowe, biorące udział w regulacji ekspresji genu LDH-A (kinazy białkowej A oraz kinazy białkowej C), działają na obydwu jej etapach (24).

### Mutacje genu dehydrogenazy mleczanowej-A

Analiza genu LDH-A człowieka i myszy wykazała szereg istotnych mutacji w sekwencjach kodujących domeny, niezbędne do prawidłowego funkcjonowania tego enzymu. Mutacje te prowadzą do zmian konformacyjnych cząsteczki LDH, powodując dysfunkcję enzymu, zmianę właściwości kinetycznych, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia jego aktywności (40). Zespołem chorobowym wywoływanym bezpośrednio przez mutacje w genie LDH-A jest jej niedobór, nazywany glikogenozą typu XI. Jest to rzadka choroba dziedziczna wykryta w Japonii (53). U ludzi dotkniętych tą chorobą występowała powysiłkowa obecność mioglobiny w moczu oraz szybkie znużenie mięśni szkieletowych podczas ich pracy. Stwierdzono również, że w czasie ćwiczeń nie następuje spodziewany wzrost stężenia kwasu mlekowego, lecz pirogronianu (27). Do wspólnych objawów klinicznych niedoboru LDH-A u osobników homozygotycznych zalicza się powysiłkową mioglobinurię, powikłania w czasie porodu (sztywność mięśni macicy) oraz zmiany skórne. Obserwuje się również bóle, sztywnienie oraz skurcze mięśni w czasie ćwiczeń. Aktywność ogólna LDH w surowicy nie jest obniżona, brak jest natomiast w surowicy i erytrocytach izozymu LDH-A, występuje tylko LDH-B. U osobników heterozygotycznych nie obserwuje się typowych objawów klinicznych, rzadko obniżona jest aktywność ogólna LDH w surowicy, następuje natomiast spadek syntezy podjednostek A w stosunku do B (33).

Przemiany mleczanu w organizmie oraz udział w nich poszczególnych izozymów dehydrogenazy mleczanowej są dość złożonym zagadnieniem, zależnym od wielu czynników. Liczne badania nad przemianami mleczanu w organizmie prowadzone od kilkudziesięciu lat przeczą panującemu przekonaniu, że jego produkcja stanowi wyłącznie ślepy zaułek metaboliczny. Mięśnie szkieletowe, oprócz faktu, iż w czasie swojej pracy są producentem kwasu mlekowego, zdolne są również do jego aktywnego pobierania i utleniania. Utlenianie mleczanu do pirogronianu bezpośrednio w tkance mięśniowej jest jedną z dróg jego utylizacji, stanowi także pewne źródło energii. Procesy te mogą mieć istotny wpływ na dzielność gołębi w czasie wielogodzinnego (nieradko) lotu, tzn. na szybkość oraz wytrzymałość fizyczną ptaków. Wszelkie zmia-

ny w strukturze genu LDH-A mogą się zatem przekładać na wartość lotową gołębia pocztowego; podjęcie prac zmierzających do wykrycia form polimorficznych tego genu oraz ich wpływu na fenotyp gołębia pocztowego, w opinii autorów, wydają się w pełni uzasadnione.

### Piśmiennictwo

1. Ahlborg G., Hagenfeldt L., Wahren J.: Substrate utilization by the inactive leg during one-leg or arm exercise. *J. Appl. Physiol.* 1975, 39, 718-723.
2. Apple F. S., Rogers M. A.: Skeletal muscle lactate dehydrogenase isoenzyme alterations in man and woman marathon runners. *J. Appl. Physiol.* 1986, 61, 477-481.
3. Boussouar F., Grataroli R., Ji J., Benahmed M.: Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  stimulates lactate dehydrogenase A expression in porcine cultured sertoli cells: mechanisms of action. *Endocrinology* 1999, 140, 3054-3062.
4. Brooks G. A.: Mammalian fuel utilization during sustained exercise. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 1998, 120, 89-107.
5. Brooks G. A., Dubouchaud H., Brown M., Sicurello J. P., Butz C. E.: Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 1129-1134.
6. Cadeffau J., Casademont J., Grau J. M., Fernandez J., Bulagauer A., Vermet M., Cusso R., Urbara Marquee A.: Biochemical and histochemical adaptation to sprint training in young athletes. *Acta Physiol. Scand.* 1990, 140, 341-351.
7. Carlson L. A., Pernow B.: Oxygen utilization and lactic acid formation in the legs at rest and during exercise in normal subjects and in patients with arteriosclerosis obliterans. *Acta Med. Scand.* 1959, 164, 39-52.
8. Chaplin S. B., Munson M. M., Knuth S. T.: The effect of exercise and restraint on pectoral muscle metabolism in pigeons. *J. Comp. Physiol. B* 1997, 167, 197-203.
9. Chung F.-Z., Tsujibo H., Bhattacharyya U., Sharief F. S., Li S. S.-L.: Genomic organization of human lactate dehydrogenase-A gene. *Biochem. J.* 1985, 231, 537-541.
10. Dawson D. M., Goodfriend T. L., Kaplan N. O.: Lactic dehydrogenase: function of the two types. *Science* 1964, 143, 929-993.
11. DeDuve C., Wattiaux R., Baudhuin P.: Distribution of enzymes between subcellular fractions in animal tissues. *Adv. Enzymol.* 1964, 24, 291-304.
12. Derda D. F., Miles M. F., Schweppe J. S., Jungmann R. A.: Cyclic AMP regulation of lactate dehydrogenase. Isoproterenol and N<sub>6</sub>,O<sub>2</sub>'-dibutyryl cyclic AMP increase the levels of lactate dehydrogenase-5 isozyme and its messenger RNA in rat C6 glioma cells. *J. Biol. Chem.* 1980, 255, 11112-11121.
13. Dolken G., Leisner E., Pette D.: Immunofluorescent localization of glycolytic enzyme protein and of malate dehydrogenase isozymes in cross-straited skeletal muscle and heart of the rabbit. *Histochemistry* 1975, 43, 113-121.
14. Dressler K. A., Mathias S., Kolesnick R. N.: Tumor necrosis factor activates the sphingomyelin signal transduction pathway in a cell free system. *Science* 1992, 255, 1715-1718.
15. Drury D. R., Wick A. N.: Metabolism of lactic acid in the intact rabbit. *Am. J. Physiol.* 1956, 184, 304-308.
16. Essen-Gustavsson B., Lindholm A.: Muscle fibre characteristics of active and inactive Standardbred horses. *Equine Vet. J.* 1985, 17, 434-438.
17. Eventoff W., Rossmann M. G., Taylor S. S., Torff J. H., Meyer H., Keil W., Kiltz H. H.: Structural adaptation of lactate dehydrogenase isozymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1977, 74, 2677-2681.
18. Firth J. D., Ebert B. L., Ratcliffe P. J.: Hypoxic regulation of lactate dehydrogenase A. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 21021-21027.
19. Fletcher W. M., Hopkins F. G.: Lactic acid in amphibian muscle. *J. Physiol.* 1907, 35, 247-309.
20. Fukasawa K. M., Li S. S.-L.: Complete nucleotide sequence of the mouse lactate dehydrogenase-A functional gene: comparison of the exon-intron organization of the dehydrogenase genes. *Genetics* 1987, 116, 99-105.
21. Fukasawa K. M., Li S. S.-L.: Nucleotide sequence of the putative regulatory region of mouse lactate dehydrogenase-A gene. *Biochem. J.* 1986, 235, 435-439.
22. Holmes R. S.: Evolution of lactate dehydrogenase genes. *FEBS Lett.* 1972, 28, 51-55.
23. Huang D., Hubbard C. J., Jungmann R. A.: Lactate dehydrogenase A subunit messenger RNA stability is synergistically regulated via the protein kinase A and C signal transduction pathways. *Mol. Endocrinol.* 1995, 9, 994-1004.

24. Huang D., Jungmann R. A.: Transcriptional regulation of the lactate dehydrogenase A subunit gene by the phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1995, 108, 87-94.
25. Jervell O.: Investigation of the concentration of lactic acid in blood and urine under physiologic and pathologic conditions. *Acta Med. Scand.* 1928, 56, 831-838.
26. Juel C., Halestrap A. P.: Lactate transport in skeletal muscle – role and regulation of the monocarboxylate transporter. *J. Physiol.* 1999, 517, 633-642.
27. Kanno T., Sudo K., Takeuchi I., Kanda S., Honda N., Nishimura Y., Ohyama K.: Hereditary deficiency of lactate dehydrogenase M-subunit. *Clin. Chim. Acta* 1980, 108, 267-276.
28. Karlsson J.: Lactate and phosphagen concentrations in working muscle of man. *Acta. Physiol. Scand.* 1971, 358, 1-72.
29. Lebo R. V., Cheung M. C., Bruce B. D., Riccardi V. M., Kao F. T., Kan Y. W.: Mapping parathyroid hormone,  $\beta$ -globin, insulin, and LDH-A genes within the human chromosome 11 short arm by spot blotting sorted chromosomes. *Hum. Genet.* 1985, 69, 316-320.
30. Li S. S.-L., Fitch W. M., Pan Y. C. E., Sharief F. S.: Evolutionary relationships of vertebrate lactate dehydrogenase isozymes A4 (muscle), B4 (heart) and C4 (testis). *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 7029-7032.
31. Li S. S.-L., Tian H. F., Fukasawa K. M., Yagi K., Shimizu M., Sharief F. S., Nakashima Y., Pan Y. E.: Protein structure and gene organization of mouse lactate dehydrogenase-A isozyme. *Eur. J. Biochem.* 1985, 149, 215-225.
32. Lluis C.: Lactate dehydrogenase binding to the mitochondrial fraction and to a mitochondrial inhibitor as a function of the isoenzymatic composition. *Int. J. Biochem.* 1985, 17, 1219-1226.
33. Maekawa M., Kanno T.: Laboratory and clinical features of lactate dehydrogenase subunit deficiencies. *Clin. Chim. Acta* 1989, 185, 299-308.
34. Mannen H., Tsui S. C. M., Krushkal J. S., Li W. H., Li S. S.-L.: The cDNA cloning and molecular evolution of reptile and pigeon lactate dehydrogenase isozymes. *Mol. Biol. Evol.* 1997, 14, 1081-1087.
35. Matrisian L. M., Rautmann G., Magun B. E., Breathnach R.: Epidermal growth factor or serum stimulation of rat fibroblasts induces an elevation in mRNA levels for lactate dehydrogenase and other glycolytic enzymes. *Nucleic Acids Res.* 1985, 13, 711-726.
36. Matson R. H.: Distribution of the testis-specific LDH-X among avian taxa with comments on the evolution of the LDH gene family. *Syst. Zool.* 1989, 38, 106-115.
37. Nehar D., Mauduit C., Revol A., Morera A. M., Benahmed M.: Effect of epidermal growth factor/transferrin growth factor on lactate production in porcine Sertoli cells: glucose transport and lactate dehydrogenase isozymes as potential sites of action. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1993, 92, 45-53.
38. Pan Y. C. E., Sharief F. S., Okabe M., Huang S., Li S. S.-L.: Amino acid sequence studies on lactate dehydrogenase C4 isozyme from mouse and rat testes. *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 7005-7016.
39. Popinigis J., Antosiewicz J., Crimi M., Lenaz G., Wakabayashi T.: Human skeletal muscle: participation of different metabolic activities in oxidation of l-lactate. *Acta Biochem. Pol.* 1991, 38, 169-175.
40. Pretsch W., Chatterjee B., Favor J., Merkle S., Sandulache R.: Molecular, genetic and biochemical characterization of lactate dehydrogenase-A enzyme activity mutations in *Mus musculus*. *Mamm. Genome* 1998, 9, 144-149.
41. Quinn P. G.: Distinct activation domains within cAMP response element – binding protein (CREB) mediate basal and cAMP-stimulated transcription. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 16999-17009.
42. Roesler W. J., Vandebark G. R., Hanson R. W.: Cyclic AMP and the induction of eukaryotic gene transcription. *J. Biol. Chem.* 1988, 263, 9063-9066.
43. Sakai I., Sharief F. S., Pan Y. C. E., Li S. S.-L.: The cDNA and protein sequences of human lactate dehydrogenase-B. *Biochem. J.* 1987, 248, 933-936.
44. Semenza G. L., Jiang B.-H., Leung S. W., Passantino R., Concordet J.-P., Maire P., Giallongo A.: Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 32529-32537.
45. Short M. L., Huang D., Milkowski D. M., Short S., Kunstman K., Soong Ch.-J., Chung K. C., Jungmann R. A.: Analysis of the rat lactate dehydrogenase A subunit gene promoter/regulatory region. *Biochem. J.* 1994, 304, 391-398.
46. Short S., Tian D., Short M. L., Jungmann R. A.: Structural determinants for post-transcriptional stabilization of lactate dehydrogenase A mRNA by the protein kinase C signal pathway. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 12963-12969.
47. Soares E. R.: Genetic and linkage tests. *Mouse News Lett.* 1978, 59, 11.
48. Stambaugh R., Post D.: Substrate and product inhibition of rabbit muscle lactate dehydrogenase heart (H4) and muscle (M4) isozymes. *J. Biol. Chem.* 1966, 241, 1462-1467.
49. Szczyńska-Kaczmarek A.: L-lactate oxidation by skeletal muscle mitochondria. *Int. J. Biochem.* 1990, 22, 617-620.
50. Takano T., Li S. S.-L.: Structure of human lactate dehydrogenase-B gene. *Biochem. J.* 1989 a, 257, 921-924.
51. Takano T., Li S. S.-L.: Human testicular lactate dehydrogenase-C gene is interrupted by six introns at positions homologous to those of LDH-A (muscle) and LDH-B (heart) genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989 b, 159, 579-583.
52. Tsuji S., Qureshi M. A., Hou E. W., Fitch W. M., Li S. S.-L.: Evolutionary relationships of lactate dehydrogenase (LDHs) from mammals, birds, an amphibian, fish, barley and bacteria: LDH cDNA sequences from *Xenopus*, pig and rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 9392-9396.
53. Tsujino S., Shanke S., Keith A., Bromnell W., Haller R. G., DiMauro S.: Molecular genetic studies of lactate dehydrogenase deficiency in white patients. *Ann. Neurol.* 1994, 36, 661-665.
54. Van Hall G.: Lactate as a fuel for mitochondrial respiration. *Acta Physiol. Scand.* 2000, 168, 643-656.
55. Zinkham W. H., Isensee H., Renwick J. H.: Linkage of lactate dehydrogenase B and C loci in pigeons. *Science* 1969, 164, 185-187.

Adres autora: dr inż. Andrzej Dybus, ul. Doktora Judyma 12, 71-460 Szczecin

## STAN ZAKAŻNYCH CHOROBY ZWIERZĄT W POLSCE

według danych Głównego Inspektoratu Weterynarii w lipcu 2005 r.\*)

- 1. Wścieklizna zwierząt dzikich** – wystąpiła w 4 województwach: lubelskim (1-1), podkarpackim (1-1), warmińsko-mazurskim (5-6) i wielkopolskim (1-1). Zanotowano ją u 8 lisów i 1 kuny.
- 2. Wścieklizna zwierząt domowych** – wystąpiła w 2 województwach: podkarpackim (1-1) i warmińsko-mazurskim (1-1). Zanotowano ją u 1 psa i 1 sztuki bydła.
- 3. BSE** – stwierdzono w województwie wielkopolskim (1-1).
- 4. Zgnielec amerykański pszczoł** – wystąpił w 4 województwach: dolnośląskim (1-1), kujawsko-pomorskim (2-2), lubelskim (2-2) i małopolskim (1-1).

\*) W nawiasach podano liczbę powiatów i miejscowości, w których choroba została stwierdzona w okresie sprawozdawczym.