

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

FACULTAD DE  
QUIMICA



BIBLOTECA



“LA DESHIDROGENASA LACTICA”

## TESINA TEORICA

Que para obtener el titulo de:

**QUIMICO BIOLOGO.**

P r e s e n t a :

**Ma. Guadalupe Tapia Moreno**

INDICE

OBJETIVO.....	( 1 )
INTRODUCCION.....	( 2 )
ESTRUCTURA MOLECULAR.....	( 4 )
PURIFICACION.....	( 10 )
CINETICA.....	( 12 )
IMPORTANCIA CLINICA.....	( 14 )
DEFICIENCIAS GENETICAS.....	( 22 )
DESARROLLO DE LOS ASPECTOS GENETICO Y EVOLUTIVO DEL SISTEMA ISOENZIMATICO DE LA DESHIDROGENASA LACTICA.....	( 25 )
BIBLIOGRAFIA.....	( 30 )

OBJETIVO:

ACTUALIZACION DEL CONOCIMIENTO TEORICO-PRACTICO  
DE LA DESHIDROGENASA LACTICA.

## INTRODUCCION:

La Deshidrogenasa Láctica ( E.C.1.1.1.27, L-lactato: NAD<sup>+</sup> oxidoreductasa ) es un enzima que está presente en todos los vertebrados; donde cataliza en forma reversible, la conversión de piruvato a L-lactato por el siguiente equilibrio:



La actividad de la LDH se mide espectrofotométricamente a 340 nm, por la oxidación de NADH con piruvato ( disminución de absorbancia ) o reducción de NAD<sup>+</sup> con lactato ( aumento de absorbancia ) a velocidades de 0.05 - 0.1/min. para producir un cambio en la absorbancia.

La LDH, también se encuentra en muchos organismos invertebrados, en plantas, y en microorganismos; en algunos de estos organismos el D-lactato sirve como sustrato; mientras que en las levaduras, el citocromo C sustituye al NAD<sup>+</sup>.

La ocurrencia de una amplia distribución proviene del papel decisivo que juega la LDH en el metabolismo glucolítico. Además, obliga a los organismos a almacenar oxígeno en forma de lactato, para degradarlo por reoxidación a piruvato cuando se requiere.

La LDH ha recibido gran atención, por su importancia metabólica y su existencia en varias formas isoenzimáticas.

Las isoenzimas se forman por la asociación de dos o tres tipos de subunidades diferentes en todos los vertebrados superiores. Cada tipo de subunidad: A, B ó C esta codificada por

un gen específico: ldh1, ldh2, ldh3, respectivamente. Dos subunidades diferentes forman cinco isoenzimas:  $A_4$ ,  $A_1B_3$ ,  $A_2B_2$ ,  $A_3B_1$ ,  $B_4$ ; y tres subunidades pueden formar 15 isoenzimas.

( 1 )

ESTRUCTURA MOLECULAR

Los tetrámeros de la LDH se pueden disociar, congelándolos y descongelándolos en buffers apropiados, en altas concentraciones de sales y con agentes desnaturalizantes como urea o guanidina-HCl.

Las subunidades tienen un peso molecular de 35000 en todos los vertebrados; la composición de aminoácidos difiere para cada subunidad y para cada especie. Sin embargo, la homología extensiva es aparentemente igual entre las subunidades y particularmente entre subunidades del mismo tipo en especies diferentes. Esta homología es evidente en la lista de asociación de subunidades in vitro de diferentes especies para formar tetrámeros funcionales en proporción binomial. En mamíferos y pájaros la asociación de subunidades de la LDH parece ser al azar y se forma en proporción binomial en las isoenzimas.

La abundancia relativa de las cinco isoenzimas en cada célula es totalmente dependiente del número de subunidades de cada tipo disponible para combinar. Estos números reflejan la actividad relativa de los genes correspondientes. En reptiles anfibios y peces la frecuencia de combinación de subunidades está restringida; por ello en caso extremo, solamente forma homotetrámeros. En algunas especies se forma el heterotetrámero simétrico  $A_2B_2$  y en otras especies los heterotetrámeros  $A_1B_3$  y  $A_3B_1$ , pero no en proporción binomial. El tetrámero  $A_4$  se encuentra en los cyclostomes ( animales primitivos ) y la

síntesis de LDH depende aparentemente de la actividad de un gen.

Se ha trabajado mucho en la secuencia de aminoácidos de las subunidades de las diferentes isoenzimas de varias especies; pero aún quedan numerosas ambigüedades; ya que requerimos de información genética más precisa y del estado evolutivo de las subunidades de la LDH conocidas.

El D-lactato específico de LDHs encontrado en varios invertebrados, posee la subunidad del mismo tamaño, pero existe como dímero de 70000 unidades de peso molecular y como trámero en otros. Ahora es muy conocida la estructura terciaria de la LDH dando una visión razonablemente precisa del mecanismo catalítico. Las isoenzimas poco examinadas muestran esencialmente, la misma estructura terciaria a una resolución de 2.9 Å; la ramificación de la cadena principal, alfa-hélice y las cadenas beta son idénticas. Todas las isoenzimas excepto, la LDH-C<sub>4</sub>, cristalizan con un residuo de aminoácido saliente ( 99 - 112 ) en una conformación abierta. Este aminoácido se mueve 13 Å para cubrir a la coenzima durante la formación del complejo ternario; pero en cristalización de C<sub>4</sub> el aminoácido saliente se encurva cuando no hay formación de complejo.

El centro activo parece ser el mismo en todas las isoenzimas, al igual que otras partes de la molécula, importantes en catálisis.

Las isoenzimas son inhibidas por reactivos sulfhídricos que interactúan con el residuo de aminoácido de cisteína 155 situado en un dodecapéptido que se encuentra en todas las isoenzimas examinadas, aunque esta área no es del sitio catalítico, pero es posición estéricamente impedida para la coenzima cuando está unida al sulfhídrico. ( 1 )

La LDH-A<sub>4</sub> ha sido material de estudio detallado de reconstitución, después de una desactivación a bajo pH y/o guanidina-HCl o urea. Una vez restablecida, bajo condiciones de reactivación cinética sigmoideal. La descripción cuantitativa de la cinética esta estipulada por un mecanismo uni-bimolecular irreversible, con su cinética constante, asumida por las unidades catalíticamente inactivas. Por lo tanto, la estructura tridimensional de la LDH-A<sub>4</sub> no depende del método de desnaturalización/renaturalización sino que existen intermedios en el proceso uni-bimolecular de reconstitución, que se encargan de la unión o asociación.

En los experimentos de unión de híbridos se encontró que los pasos de la asociación corresponden a la formación de los dímeros o tetrámeros.

Para la LDH-B<sub>4</sub>, la cinética de reactivación después de la disociación ácida conduce a la formación paralela de tetrámeros, al igual que para LDH-A<sub>4</sub>. Estos resultados juntamente con el mecanismo uni-bimolecular de reconstitución, demuestra que la adquisición de la estructura tetrámerica ori-

ginal es necesaria para tener actividad enzimática. En general, la reconstitución de la enzima oligomérica en solución se caracteriza por una correlación de pliegues cerrados y asociación. En todos los casos investigados hasta el momento, la función catalítica requiere del ensamble de las subunidades estructurales de la forma original de estructura cuaternaria. ( 2 )

La ocurrencia de tres tipos de enlace diferente de una molécula de coenzima alcohol deshidrogenasa de hígado, apoya la hipótesis que explica las propiedades cinéticas de las coenzimas análogas de  $\text{NAD}^+$  para la LDH. La inhibición o actividad puede emplearse como aceptor híbrido para detectar la ocurrencia de enlace hidrógeno entre los grupos laterales del anillo de nicotinamida y la enzima.

El comportamiento de los análogos del  $\text{NAD}^+$  para la LDH se han estudiado ampliamente para la comprensión de los factores involucrados en la unión de la coenzima natural; relacionándolos en parte cuantitativamente para la estructura de LDH, para la descripción exacta de la interacción sustrato y coenzima con la enzima. ( 3 )

Los estudios de difracción de rayos X muestran que la LDH tiene dos tipos de sitios de unión aniónica, además del sitio de unión del nucleótido de piridina. Donde uno de ellos está ocupado normalmente por el sustrato: piruvato o lactato, mientras que la función del otro sitio, en subunida

des de interface es desconocido. La actividad de la LDH esta influenciada fuertemente por concentraciones fisiológicas de cloruro, por lo que la Km de la enzima es mayor en buffer de tris-HCl que en buffer fosfato; comparativamente, la disociación del NADH de la LDH aumenta con la adición de iones cloro. Se han considerado estos efectos, por la búsqueda de algún otro mecanismo de competencia directa por sitios de unión.

( 4 )

PURIFICACION

La cromatografía de afinidad es una poderosa herramienta para la purificación de algunas proteínas, incluyendo a las deshidrogenasas; immobilizadas por  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , y AMP, compuestos de  $\text{NAD}^+$  que se encuentran comercialmente disponibles y se han usado ampliamente. Estas resinas carecen de especificidad para una sola enzima. La gran ventaja de esta herramienta, es el fácil aislamiento de varias deshidrogenasas, ahorro de tiempo de síntesis, la caracterización de enlace para sustratos análogos y pequeñas cantidades de enzima altamente purificada en 24 hrs. Además, la generalización de la purificación para sistemas de enzimas que presentan secuencia ordenada de unión, así como diferente afinidad por un inhibidor.

( 5 )

Las isoenzimas de LDH, ahora son común y fácilmente purificadas por cromatografía de afinidad; ya que la LDH se une al  $\text{NAD}^+$ , varios derivados de  $\text{NAD}^+$ , AMP o ATP immobilizados en sepharosa, o cromóforos específicos como azul de dextran, que sirven como ligandos para la LDH. Las isoenzimas entonces pueden eluirse diferencialmente con  $\text{NAD}^+$  o con  $\text{NADH}$ . La separación de las isoenzimas por electroforesis de zona en gel continua siendo el método principal para identificar el contenido de extracto isoenzimático o fracciones eluidas de la columna.

( 1 )

CINETICA

La composición oligomérica de la LDH tiene una gran influencia en las constantes cinéticas. En los híbridos las propiedades cinéticas no son la suma de las propiedades cinéticas por separado de las subunidades. Los valores  $V/E_t$  y la constante de Michaelis son menores para la subunidad A, probablemente porque reflejan una menor liberación de productos de la enzima. ( 6 )

Los surfactantes aniónicos y catiónicos tienen diferentes efectos en la actividad enzimática. La inactivación está correlacionada con una posible disociación de la estructura tetramérica original de la LDH en subunidades y con la presencia del cofactor, el oligómero se estabiliza impidiendo la inactivación. Los surfactantes iónicos inhiben selectivamente a las isoenzimas de la LDH, según el tipo de carga. ( 7 )

IMPORTANCIA CLINICA

El estudio de las enzimas en homogenizados de tejido revela una gran especificidad y constancia del modelo de isoenzima en los tejidos de organismos adultos y en embriones en etapas de desarrollo. Estos resultados implican una función fisiológica muy específica, lograda por un programa finamente estructurado de la función genética, para producir un modelo isoenzimático específico. Las subunidades no existen -- por mucho tiempo como monómeros, en el plasma y probablemente no funcionan como tales.

Cada unidad parece ser catalíticamente independiente --- cuando funciona como parte de un tetrámero. Las propiedades cinéticas son diferentes para la subunidad A y B y aún más - divergentes para la subunidad C. Hay evidencia que sugiere - que la presencia de la subunidad B influye en cierto grado - en las actividades de la subunidad A, cuando se presentan en el mismo tetrámero. La concentración en estado estacionario de las diferentes isoenzimas en alguna célula, refleja las - velocidades relativas de síntesis y degradación de las sub-- unidades individuales. Por consiguiente, la diferencia en -- contenido isoenzimático entre células se debe a una gran variedad en la velocidad relativa de síntesis. Las velocidades de degradación, aunque difieren en células distintas, parece ser igual para todas las isoenzimas de LDH que catalizan la interconversión de piruvato y lactato comportándose con dife-- rente cinética.

Las isoenzimas son similares en su capacidad para formar asociaciones complejas tanto binarias como terciarias, con sustrato o inhibidores y la coenzima. Hay una secuencia de interacción obligatoria; primero se une la coenzima y luego el sustrato. Aún las isoenzimas alélicas ( subunidad B ), de los peces muestran cinética diferente, lo cual tiene significado, para su adaptación a diferentes habitats. Los homotetrámeros  $A_4$  y  $B_4$ , difieren en sus valores relativamente bajos de la constante de Michaelis para piruvato y altas velocidades máximas. Más aún, las isoenzimas  $B_4$  son más sensibles a la inhibición por alta concentración de piruvato que las isoenzimas  $A_4$ , las cuales son relativamente diferentes a las concentraciones de sustrato, al menos en rangos fisiológicos.

Estas características han sido generalmente usadas para explicar las distribuciones de isoenzima en tejidos. La subunidad B es abundante en tejidos y órganos con un suplemento relativamente constante de oxígeno y consumo de lactato; corazón y cerebro, por ejemplo. La subunidad A es más abundante en tejidos sometidos a una anaerobiosis pasajera y a una gran producción de ácido láctico, como el músculo esquelético. Más aún, la isoenzima  $B_4$  parece ser completamente libre de funcionar en citosol, pero mucho del contenido isoenzimático  $A_4$  que permanece en el músculo esquelético, está unido a las membranas y se mantiene inactivo.

Dado que la constante de unión para el  $\text{NAD}^+$  y el alto coeficiente  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  en células de corazón en condiciones normales la subunidad B, en el músculo de corazón está unida a  $\text{NAD}^+$ . De hecho la LDH en extracto de muchos tejidos, incluyendo músculo de corazón, esta normalmente unida a  $\text{NAD}^+$ . Por consiguiente, la isoenzima  $\text{B}_4$  del músculo de corazón funciona principalmente para oxidar al ácido láctico a piruvato -- con la producción de NADH, el cual en turno es oxidado por medio del citocromo para generar energía, para apoyar la fisiología normal del corazón. En células con altos niveles de  $\text{NAD}^+$  y piruvato, se forma un complejo malogrado ternario entre el  $\text{NAD}^+$ , piruvato y enzima, para reducir el título de enzima activa y disminuir la utilización del ácido láctico para la síntesis del piruvato. La existencia y la formación -- in vitro o in vivo de estos complejos está bien documentada. Por este sistema de retroalimentación negativa que involucra LDH-B y una relación constante de  $\text{NAD}^+$  a NADH, tan esencial para el metabolismo normal de la célula para su mantenimiento. La situación con la subunidad A es completamente opuesta. Es bien oxigenado el músculo esquelético y muy poco oxigenado cuando hay poco ácido láctico. Cuando el NADH esta en escaso suministro en músculo sería ventajoso para la célula inhibir la actividad de la LDH. El mismo efecto puede producirse por unión de isoenzimas  $\text{A}_4$  a membrana celular, cuando hay una alta proporción de  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ .

Si aumenta la producción de NADH se libera ( o eluye ) - la unión de la membrana de LDH para que participe en la conversión catalítica de NADH a  $\text{NAD}^+$  con la concomitante generación de ácido láctico a partir de piruvato. Esto significa - que la isoenzima  $A_4$  funciona bien en un metabolismo de un medio ambiente con abundante piruvato y suplemento de oxígeno.

Un tipo de retroalimentación positiva existe en células ricas en subunidad A, así que incrementan cantidades de NADH liberando incremento de unión de LDH, el cual conduce a la oxidación de este NADH en la conversión de ácido pirúvico a ácido láctico. Se lleva a cabo una liberación explosiva de energía para contracción muscular, aún en la ausencia de oxígeno. Esta es precisamente la reacción que ocurre en tejido de hígado y en músculo esquelético durante períodos de poco oxígeno disponible. Así un mecanismo de retroalimentación positiva funciona en tejido tal como hígado y músculo esquelético, para producir cantidades óptimas disponibles de LDH activa y un mecanismo de retroalimentación negativa, alcanza - el mismo resultado final en músculo de corazón. Ambos mecanismos de retroalimentación sirven para mantener cocientes - óptimos de  $\text{NAD}^+$  a NADH.

La isoenzima  $C_4$ , codificada  $\text{ldh3}$ , es la más especializada de todas las isoenzimas de LDH. El gen de  $\text{ldh3}$  funciona - en todos los mamíferos estudiados ( y en pichón ), en espermatozoito primario y en aquellas células únicas; en caso ex-

tremo de tiempo y especificidad celular de la función del --  
gen.

El gen parece totalmente inactivo en hembras. La isoenzima  $C_4$  tiene diferentes propiedades cinéticas y una amplia especificidad para el sustrato que las otras isoenzimas. Estas características sirven para las necesidades metabólicas del esperma y no hay evidencia convincente de la subunidad C en anfibios y reptiles. En pez, se encontró una tercera subunidad con homología incierta a la subunidad C de mamífero, --- cuando tienen la subunidad C las isoenzimas tienen otras actividades en el hígado o en retina de teleosts adelantados. En pez primitivo, la subunidad C es paralela a la distribución de subunidad B en especificidad de tejido y probablemente realiza funciones similares. ( 1 )

Se estudio un método para la separación y análisis de -- las isoenzimas 1 y 2 de LDH como fracciones puras. El método total implica el uso de tratamiento calorífico para destruir las fracciones lábiles al calor ( isoenzima 3, 4 y 5 ); usando una resina de intercambio iónico; y bloques inmunoquímicos de la subunidad muscular para eliminar contaminación de la fracción que contiene isoenzima 1 con isoenzima 2 y viceversa. Este método modificado se ha ampliado para medir isoenzima 1 y 2 en hemolizados, de adultos normales ( según los niveles de plasma ). Apesar de la abundancia de métodos disponibles para purificación y medición de isoenzima LDH, este

sistema parece ser completamente satisfactorio.

Los trabajos presentes de combinación de técnicas, parecen ser una solución conveniente para la preparación de fracciones de isoenzima 1 y 2 puras de plasma y glóbulos rojos - lizados. Por lo tanto puede aplicarse a muestras de investigación de pacientes con probable infarto al miocardio, anemia megaloblástica u otros trastornos hematológicos. ( 8 )

Se encontró en suero de paciente con adenocarcinoma de ovario una elevación anormal de isoenzima 1; la isoenzima fue purificada de tejido de tumor y se encontró esta isoenzima - en suero y tumor del paciente con movilidad electroforética. Un modelo ordinario de la isoenzima LDH en condiciones neo--plásticas incluyendo tumor urogenital femenino, tiene incremento de las fracciones catódicas: 3, 4 y 5. Sin embargo, no es un indicador sensible; estos modelos anormales se han usado como instrumentos de diagnóstico en tejido prostático, --pools vaginal, carcinoma preinvasivo de cervix y tejido co--lon rectal con poco éxito. En neoplasma de ovario, se incrementa la isoenzima LDH: 3, 4 y 5. En este ensayo se reporta un aumento predominantemente anormal de LDH-1 de tejido de - un tumor de paciente con adenocarcinoma de ovario. Es importante notar que la LDH de estos pacientes se había elevado - en un año, más bien que de repente. El supuesto mecanismo en el paciente es que el gen que controla la síntesis de subuniidad A, estuvo reprimido según resultados de transformación -

maligna en las células de origen, produciendo mayores cantidades de subunidad A normalmente. Los tumores homogenizados presentan una actividad de 745 U.I./gr. de proteína que es comparable a tumores de ovario y otros males con aumento de actividad de LDH.

( 9 )

DEFICIENCIAS GENETICAS

En el conflicto de la presunción que la LDH, tiene vital importancia en el metabolismo celular de los mamíferos. Son extraordinarios los reportes bien documentados de varias familias japonesas exhibiendo deficiencias en síntesis de una u otra subunidad A o B. Pero se han identificado heterocigotos y homocigotos. El heterocigoto produce cantidades reducidas de la subunidad; aparentemente un gen funciona normalmente, mientras que el alelo es totalmente inactivo. Los homocigotos tienen dos genes silenciosos para la subunidad totalmente desaparecida. Tres familias con una deficiencia de subunidad B han sido reportadas hasta ahora y una familia con deficiencia de subunidad A. La ausencia de subunidad B no parece tener efectos nocivos en la salud, sin embargo la ausencia de la subunidad A produce un síndrome serio. En este caso, modelos de metabolitos celulares fueron cambiados mínimamente por deficiencias de subunidad B, aunque los modelos no fueron dañados seriamente. Por supuesto, no se han descubierto individuos sin una subunidad o la otra. Seguramente, serían fatales estos desordenes hereditarios en síntesis de subunidades de LDH, todo esto ayuda para examinar en detalle las funciones metabólicas de las isoenzimas de la LDH.

Recientemente, todavía otro sistema de isoenzimas de LDH se reportó y se designó  $LDH_k$ . Este sistema isoenzimático es activo en varios tejidos malignos pero también se encuentra en cierto tejido normal; aunque las isoenzimas  $LDH_k$  participan

de una característica catalítica parecida a las de las otras isoenzimas de LDH, hay diferencias significativas en tamaño molecular y en propiedades cinéticas. No obstante la semejanza estructural de las isoenzimas D-lactato específicas tienen la posibilidad igual que la isoenzimas de LDH<sub>K</sub> de ser miembros de una gran familia de isoenzimas de la LDH. ( 1 )

DESARROLLO DE LOS ASPECTOS GENETICO Y EVOLUTIVO  
DEL SISTEMA ISOENZIMATICO DE LA LDH

La l-lactato deshidrogenasa ( E.C.1.1.1.27 ) LDH, de vertebrados, es un enzima altamente significativa fisiológica--mente y es de especial interés porque existe como isoenzimas convertidas en genes multiples que han evolucionado sustan--cialmente en su estructura y desarrollada regulación. Los --primeros conocimientos en la expresión de la estructura y de desarrollo de la LDH, dirigidos por Markert, establecen el concepto de isoenzima y demuestra el significado biológico. La búsqueda sobre la LDH continúa para servir de modelo para la investigación de otros sistemas isoenzimáticos. Una demostración clara de los cambios desarrollados por las isoenzimas, enfocan la atención sobre la importancia de determinar las -bases genéticas, molecular y evolutivas de las isoenzimas y el mecanismo regulador de su expresión genética.

El descubrimiento de variantes alélicas, alterando la movilidad electroforética de la LDH ayudó a verificar su estado tetramérico, el montaje de subunidades, la existencia de multiples lugares y el dominio de expresión de sus alelos. -Las isoenzimas alélicas han sido útiles para establecer la -presencia y función de diferentes genomas en células y órga--nos híbridos. Las isoenzimas alélicas de LDH de pez, anfi---bios y reptiles se han usado para investigar la cantidad de medicamento para establecer un nivel para la investigación -de los mecanismos genéticos responsables del desarrollo de -un individuo de un huevo infertilizado y de especies unise--

xuales,

Mutaciones afectadas por termoestabilidad de la LDH también como función cinética se ha encontrado. Las diferencias en función cinética de isoenzimas alélicas de LDH en ciertas especies de pez se han asociado con sus diferentes frecuencias alélicas en diferente desarrollo termal. Las variantes alélicas de LDH en pez, especie *Fundulus heteroclitus* tiene significado metabólico, desarrollo y consecuencias ecológicas. Algunas " mutaciones " de la LDH en humano y otras especies no afecta significativamente, quizá por la redundancia parcial de la función de isoenzima restante, pero se esperaría una reducción en aptitud; al menos dos cantidades de LDH se han demostrado en la mayoría de las especies de vertebrados, LDH-A, convirtiendo la isoenzima predominante de músculo esquelético puro y LDH-B convirtiendo la isoenzima predominante de músculo de corazón, expresiones que se conservan en las especies. La tercera cantidad existe en pez diploide. Este gen es expresado en la retina de la mayoría de las especies e hígado de unas pocas. A diferencia este gen codifica la isoenzima específica de espermatozoos ( LDH-X o LDH-C<sub>4</sub> ) de mamíferos y algunos pichones, se ha encontrado también. En éste se estableció la base de la cantidad de LDH en especies diploides; algunas familias de peces y anfibios tienen este gen LDH-X, una y otra vez duplicado. En algunos instantes estos genes han estado silenciosos, otras veces intervienen pa

ra nueva expresión celular y temporal. En dos especies de --  
pez el gen estructural ldh-A y ldh-C se demostró que están u  
nidos. El gen ldh-B en salmón no está unido a los genes A o  
C. Sin embargo, en las comparaciones base de mapas de dife--  
rentes especies de vertebrados, se ha propuesto que todas --  
las tres LDHs fueron " sintetizadas en un vertebrado ance--  
tral o un vertebrado antecesor "; y entonces todas las LDHs  
proviene de duplicados de genes regionales. La hipótesis al  
ternativa es que el gen ldh-C proviene del gen ldh-B por una  
duplicación regional, pero que la ldh-A y ldh-B provienen de  
una polidiploidización en un rápido tiempo en la historia de  
los vertebrados. De hecho los genes ldh-A y ldh-B están en -  
cromosomas separados en todas las especies de vertebrados es  
tudiados hasta ahora; su consistente origen por medio de po-  
diploidización o por medio de una sínstesis inicial que fue  
descontinuada muy pronto en la evolución de vertebrados.

En salmones tetradiploides, se observo pseudoforma por el  
duplicado de ldh-B cuya localización es equivalentemente ce-  
rrada a sus respectivos centrómeros.

En el anfibio rana catesbiana, ldh-B está unida quizá -  
por tener el sexo unido, pero esto probablemente no es verdau  
dero para todas las especies de anfibios.

La evidencia persuade que para una tercera LDH, gen ldh-  
C está ausente en anfibios diploides y reptiles. El esperma  
específico ldh-C<sub>4</sub> de pichón se encontró por estar en un gen

estructural; ldh-C el cual está totalmente unido con el ldh-B. Los datos de la LDH de los genes B y C están unidos en -- los mamíferos, debido a la frecuencia relativa de variantes alélicas de la ldh-C de saltamontes. En todas las especies de mamíferos estudiados hasta ahora, los genes ldh-A y ldh-B residen en cromosomas separados. En algunos el gen ldh-A está en 11 cromosomas y el ldh-B en 12 cromosomas, que han sido hipotetizados por homólogos ancestrales. En el ratón *Mus musculus*, el gen estructural para ldh-A y ldh-B se localiza en cromosoma 7 y 6 respectivamente.

( 1 )

BIBLIOGRAFIA

6. G. ROBERT AINSLIE, Jr., and W. W. CLELAND, ( 1982 ), the effect of oligomeric environment on the kinetics of lactate dehydrogenase. Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 216, 101 - 104.
4. Sonia R. Anderson, ( 1981 ), effects of halide on reduced nicotinamide adenine dinucleotide binding properties and catalytic activity of beef heart lactate dehydrogenase. Biochemistry 20, 464 - 467.
8. Ivan Hunter, Brian Attok and Trevor Palmer, ( 1983 ). A novel combination of techniques for the assay of lactate dehydrogenase isoenzymes in plasma and red blood cell lysates, Clinica Chimica Acta, 135, 73 - 82.
1. Clement L. Markert ( 1984 ); Department of Biology. Cell Biochemistry and Function.
2. Klaus Müller, Hans-Dietrich Lüdeman, and Rainer Jaenicke ( 1981 ); Reconstitution of lactic dehydrogenase from pig heart after reversible high-pressure dissociation 20, 5411 - 5416.
9. John Oste Osterloh, Hassan Khayam-Basli and Thomas Drake ( 1983 ), Elevation of lactate dehydrogenase isoenzymes 1 due to adenocarcinoma of the ovary; Clinica Chimica Acta. 129, 71 - 77.
3. Jean-pierre SAMAMA, Nicole MARCHAL-HEIMER, JEAN Francois BIELLMANN, and Michael G. ROSSMANN ( 1981 ), An investigation of the active site of lactate dehydrogenase with  $NAD^+$  analogues; Eur. J. Biochem., 120, 563 - 569.

7. Karl J. Sanford, Donna J. Meyer, Michael J. Mathison and John Figueras, ( 1981 ). Selective inactivation of lactato dehydrogenase isoenzymes with ionic surfactants, Biochemistry 20, 3207 - 3214.
  
5. Gregory W. Svanas and Henry Weiner, ( 1982 ), Rapid Purification of dehydrogenase by affinity chromatography --- with complexes, Analytical BIOCHEMISTRY 124, 314 - 319.