PIOTR GRONEK, RYSZARD SŁOMSKI*, JOLANTA KWIATKOWSKA*

artykuł przeglądowy

Molekularne podłoże podwyższonej wrażliwości świń na czynniki stresowe

Katedra Hodowli i Produkcji Trzody Chlewnej Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań
*Zakład Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

Gorączka złośliwa (*Malignant hyperthermia*) występuje u człowieka średnio z częstotliwością 1:12 000 – 1:40 000 (6, 15, 39). Zaobserwowano, że u chorych podczas narkozy może dochodzić do gwałtownego podwyższenia temperatury ciała i silnych skurczów mięśni szkieletowych, co prowadzi do zgonów podczas anestezji (5, 35). Równolegle mogą wystąpić zaburzenia neurologiczne, wątrobowe i pracy nerek. Gorączka złośliwa występuje także u zwierząt (36). W wyniku przeciążenia organizmu z powodu działania czynników stresowych (podwyższona temperatura otoczenia, nadmierne stłoczenie zwierząt, poród, transport, intensywne przepędzanie zwierząt, bicie) mogą wystąpić takie objawy jak: podwyższona temperatura ciała, arytmia serca i naczyń, szybkie i gwałtowne oddychanie, sinoczerwone zabarwienie skóry w postaci plam w okolicach uszu i podbrzusza oraz sztywnienie kończyn, które w ostateczności prowadzą do zejść śmiertelnych. Choroba ta powoduje znaczne straty w hodowli świń i w procesie przerobu wieprzowiny. U zwierząt o podwyższonej wrażliwości na czynniki stresowe MHS (Malignant Hyperthermia Susceptible) obserwuje się także obniżenie poziomu cech użytkowości rozpłodowej (7, 12, 13, 23, 30, 31, 42, 47, 48, 55, 56). Mioty matek MHS są średnio o 1,16 prosięcia mniej liczne niż mioty matek MHN (Malignant Hyperthermia Normal) (7).

Również masa ciała prosiąt przy urodzeniu od loch MHS jest niższa niż prosiąt od matek MHN. Jednak nie wszyscy autorzy stwierdzili podobne zależności (56). Badania długości okresu dojrzewania i czasu trwania rui u loch rasy szwedzki yorkshire i ich krzyżówek ze szwedzką Landrace pozwoliły wykazać, że pierwsza ruja u loch MHS trwała średnio o 0,6 dnia dłużej niż u loch MHN i że różnica ta była istotna statystycznie (13).

Rozwój badań nad gorączką złośliwą

Pierwsze obserwacje związane z wrażliwością świń na stres miały miejsce w latach sześćdziesiątych, podczas przeprowadzania zabiegów weterynaryjnych u świń w narkozie z użyciem halotanu (2-bromo, 2-chloro, 1,1,1-trójfluoroetan). W dwóch niezależnych zespołach (38, 49) udowodniono, że wrażliwość na halotan, jest u świń uwarunkowana genem recesywnym, który początkowo nazwano genem Hal^n. Symbolika genu została przyjęta od nazwy testu halotanowego używanego, by przyżyciowo oznaczać wrażliwość na stres (24). Metoda testu halotanowego pozwala rozpoznawać osobniki wrażliwe na stres (MHS) nie różnicując jednak genotypów (2) homozygot Hal^{NN} i heterozygot Hal^{Nn}, które są niewrażliwe na halotan, a więc i na stres.

Początkowo jedyną metodą identyfikacji osobników podatnych na stres był więc wspomniany wyżej test halotanowy. Polegał on na poddawaniu zwierząt narkozie wziewnej w ciągu 3-5 min, stosując 4-5% mieszaninę halotanu z tlenem. Pojawiająca się podczas narkozy postępująca sztywność kończyn i mięśni brzucha kwalifikowała osobnika jako wrażliwego na stres (Hal^{nn}).

Badania w celu poszukiwania markerów krwi pozwalających na identyfikację genu Hal wykazały, że gen ten jest sprzężony z pięcioma innymi loci genów, kontrolujących polimorfizm dwu enzymów erytrocytarnych (GPI i PGD), AlBG-glikoproteiny osocza krwi (AlBG), antygenów erytrocytarnych układu H oraz alleli locus S determinujących ekspresję antygenów układu grupowego krwi A-O (24). Kolejność loci sprzężonej grupy halotanowej jest następująca: S-HAL-GPI-H-AlBG-PGD (53). Metoda różnicowania genotypów Hal^{NN} i Hal^{Nn} obejmowała test halotanowy, badanie polimorfizmu białek GPI, AlBG i PGD oraz ustalanie haplotypów, tj. układu alleli w loci sprzężonych na chromosomach u rodziców i potomków. Najczęściej występującymi utrudnieniami określenia genotypu były: a) niepełna penetracja allelu Hal^n (niektóre zwierzęta o genotypie Hal^{nn} nie wykazywały wrażliwości na halotan), b) konieczność wystąpienia w testowanym miocie przynajmniej jednego osobnika wrażliwego na halotan, c) metoda użyteczna tylko w analizie materiału osobników spokrewnionych, d) wiek testowanych zwierząt (prosiąt) nie powinien przekraczać 8-12 tygodni (24).

Przełom w badaniach genotypów Hal nastąpił w 1991 r., kiedy to opracowano molekularną metodę ich identyfikacji (18). Wykorzystano fakt, iż u osobników o genotypie Hal^{nn} występowała mutacja punktowa (tranzycja) C→T nukleotydu 1843 w genie jednej z podjednostek kanału wapniowego tj.

receptora alkaloidu roślinnego – rianodiny. Od tego czasu termin gen RYR1 (ryanodine receptor) częściowo zastąpił dotychczas używany termin gen Hal.

U świń w obrębie genu RYR1 występuje 18 miejsc polimorficznych, ale tylko wspomniane wyżej (w pozycji 1843) prowadzi do zmiany sekwencji aminokwasów z argininy na cysteinę. U człowieka gen ten został zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 19 w pozycji 19q3.1 (28). Stwierdzono w nim między innymi mutację C1840T, co również prowadzi do wystąpienia gorączki złośliwej (11).

Porównując pełną sekwencję receptora rianodiny cDNA u świń MHS i MHN nie stwierdzono występowania delecji ani kodonu typu Stop.

Gen RYR1 zlokalizowano u świń na chromosomie 6 w pozycji 6q11-q12 (1, 8, 10, 14, 19, 20, 21, 40, 41). Identyfikacja dzikich i zmutowanych alleli wykorzystuje reakcję PCR-RFLP obejmującą dwa etapy. W pierwszym przy zastosowaniu starterów flankujących region, w którym występuje naturalny polimorfizm, amplifikowany jest fragment o długości 74 pz, zaś w drugim otrzymany produkt poddaje się trawieniu przez restryktazę HinP1. U homozygot dominujących, które są odporne na stres, po trawieniu otrzymuje się dwa fragmenty wielkości 41 i 33 pz. U homozygot recesywnych w produktach amplifikacji nie ma miejsc restrykcyjnych rozpoznawanych przez endonukleazę HinP1. Rozdział produktów przeprowadza się na drodze elektroforezy na żelu poliakryloamidowym (18).

Defekt membranowy

Przyjmuje się, że istotną konsekwencją omawianej mutacji jest tzw. defekt membranowy, który objawia się nieprawidłowym transportem jonów Ca^{2+} przez kanały wapniowe siateczki śródplazmatycznej mięśni szkieletowych (34). Droga jonów wapnia do struktur komórkowych przebiega w następujących etapach: 1) pobrania Ca^{2+} z pokarmem, 2) akumulacja Ca^{2+} w jelicie cienkim (25), 3) transport Ca^{2+} do cytoplazmy podstawowej przez drobne struktury białkowe występujące w plazmolemie, tzw. kanały jonowe, 4) redystrybucja w obrębie komórki do struktur subkomórkowych, 5) przemieszczanie Ca^{2+} w obrębie cytoplazmy przy udziale białek wiążących, 6) przedostanie się do krwiobiegu i rozprowadzenie po wszystkich strukturach organizmu, 7) napływ Ca^{2+} do komórki przez kanały jonowe, 8) transport na zewnątrz plazmolemy przy udziale pompy wapniowej (ATP-aza).

Na sposób przemieszczania się jonów wapnia wpływa jego zawartość w przedziałach subkomórkowych. Około 40% całkowitego wapnia w komórkach zwierzęcych znajduje się w jądrze (magazyn głęboki), gdzie pełni przede wszystkim funkcje strukturalne. Wapń wpływa także na metabolizm kwasów nukleinowych, prowadząc do wzrostu aktywności nukleozydotrifosfatazy (NTPazy). Duże jego ilości znajdują się w siateczce śródplazmatycznej (magazyn płytki) (0,1-0,3 mmol/l), mitochondriach (0,6 mmol/l), natomiast mała ilość występuje w cytoplazmie (Ca^{2+}_{zw} = 10-1000 µmol/l i Ca^{2+}_{w} = 50-200 nmol/l). Takie rozmieszczenie Ca^{2+} sprawia, że jego przepływ do cytosolu kanałami wapniowymi nie wymaga nakładu energii, podczas gdy wydostanie się Ca^{2+} na zewnątrz komórki i pokonanie gradientu odbywa się na zasadzie pompy jonowej z wykorzystaniem ATP.

Kanały jonowe występują w plazmolemie oraz w błonach otaczających struktury komórkowe. Przez pojęcie kanał wapniowy należy rozumieć strukturę białkową występującą w błonie, tworzącą w niej „pory", przez które mogą przenikać jony, woda oraz drobnocząsteczkowe związki organiczne. Kanały wapniowe zwierząt można podzielić na kanały wrażliwe na zmiany potencjałów błonowych (VOC – volted operated channels) i kanały receptorowe (ROC – receptor operated channels), z których te drugie są otwierane przez związki chemiczne, jak hormony, neurotransmitery, czynniki wzrostowe itp. Kanały wapniowe są białkami zbudowanymi z czterech domen transbłonowych (26). Wyróżnia się trzy typy kanałów wapniowych VOC: 1) typ L, 2) typ T i 3) typ N. Wyizolowano i scharakteryzowano kanał wapniowy typu L. Składa się on z dwu dużych: $\alpha 1$ (175 kDa) i $\alpha 2$ (143 kDa) oraz trzech małych: β (54 kDa), γ (30 kDa) i δ (27 kDa) podjednostek (26).

Otwieranie i zamykanie kanału odbywa się w wyniku zmian konformacyjnych jego białka (51). Ze względu na wrażliwość kanałów na różne endo- i egzogenne substancje wyróżnia się kanały aktywowane przez Ca^{2+} lub przez inozytolo (1, 4, 5) trisfosforan (IP_3) (51). Kanały aktywowane przez Ca^{2+} i uwalniające jony wapnia z cystern siateczki śródplazmatycznej mięśni szkieletowych i gładkich, mięśnia sercowego oraz komórek mózgu i wątroby są wrażliwe na działanie alkaloidu roślinnego, rianodiny (3). Rianodina (m.cz. 493,5) jest naturalnie występującym alkaloidem, który stymuluje uwalnianie wapnia z siateczki śródplazmatycznej. Jest niezależna od metabolizmu fosfoinozytoli. Z błon siateczki śródplazmatycznej komórek zwierzęcych wyizolowano białko receptorowe wiążące ten alkaloid (51). Jest to tetramerowy peptyd, który tworzy kanał dla jonów wapnia i posiada pojedyncze miejsce wiążące rianodinę (52). Receptor rianodinowy odpowiada za uwolnienie Ca^{2+} z magazynów wewnątrzkomórkowych do cytosolu. W mięśniach gładkich i w mięśniu sercowym sygnałem powodującym otwarcie kanału receptora rianodinowego jest sam Ca^{2+}. W mięśniach szkieletowych aktywacja receptora rianodinowego następuje przez zmianę konformacji receptora dihydropirydynowego (DHPR) wywołaną przez depolaryzację błony T-tubularnej komórki mięśniowej. Znajdujący się blisko receptora rianodinowego zmieniony strukturalnie receptor DHPR oddziaływuje na receptor rianodinowy zmieniając jego konformację, czego efektem jest otwarcie kanału i uwolnienie Ca^{2+}. Tak więc zmiana w budowie receptora DHPR powoduje zmianę konformacyjną receptora rianodinowego, a to staje się przyczyną otwarcia kanału wapniowego.

Istotny problem wiąże się nie z brakiem, a z nadmiarem jonów Ca^{2+} w cytosolu i potrzebą ich usunięcia. Poziom ten jest bardzo ściśle kontrolowany, co pozwala na precyzyjną amplifikację sygnału, który jest tani energetycznie. Jony wapnia wpływają do komórki „samoczynnie" kanałami wapniowymi, nie trzeba więc ich transportować wbrew gradientowi stężeń ani syntetyzować (54). Niskie stężenie jonów wapnia w cytosolu powoduje, że stosunek sygnałów do szumu jest bardzo wysoki. To sprawia, że choćby nieznaczny napływ jonów wapnia do komórki powoduje bardzo wyraźne podwyższenie jego stężenia (54). Gdy stężenie Ca^{2+} w cytosolu przekracza 5-10 µmol/l, a więc w stanach silnego pobudzenia lub patologii, Ca^{2+} zostaje przeniesiony do mitochondriów przy pomocy wymiennika protonowego (54). W mitochondriach wapń reguluje przebieg cyklu Krebsa (54). Znacznie wyższe powinowactwo do Ca^{2+} wykazuje siateczka śródplazmatyczna oraz lizosomy i niektóre elementy cytoszkieletu. To one pozwalają utrzymać jego niski poziom w cytosolu. W siateczce śródplazmatycznej zgromadzone są znaczne ilości jonów wapnia. Jest to możliwe dzięki wiążącym je białkom: kalsekwestrynie i kalrekutinie (51). Kalsekwestryna stanowi jeden z głównych białkowych składników cystern siateczki sarkoplazmatycznej mięśni szkieletowych ssaków. Miligram tego białka może związać do 1000 nmol/l kationów wapnia (51). Podczas aktywacji kanałów jonowych może dochodzi do uwalniania z kalsekwestryny luźno związanych z nią jonów wapniowych (51). Białka wiążące w cysternach siateczki śródplazmatycznej (kalsekwestryna i kalrekutina) przeciwdziałają „przeładowaniu" tych struktur jonami wapnia (51).

U zwierząt MHS otwarcie kanału wapniowego siateczki śródplazmatycznej jest ułatwione, natomiast zamykanie jego jest utrudnione (16, 17, 34, 36).

Rola mutacji w 1843 nukleotydzie genu RYR1

Molekularnym podłożem gorączki złośliwej jest mutacja punktowa C→T powodująca zmianę argininy na cystynę w pozycji 615. W konsekwencji następuje zmiana wielkości tetramerowego peptydu receptora rianodiny (18). Związek między powyższymi faktami pozwala przypuszczać, iż arginina jest zlokalizowana na aktywnej powierzchni kanału wapniowego (18). U zwierząt MHS kanał wapniowy jest otwierany przez Ca^{2+}, ATP i kofeinę w stężeniach niższych niż w przypadku kanału wapniowego u osobników MHN. Zamykanie kanału wapniowego u zwierząt MHS jest hamowane przez Mg^{2+} i Ca^{2+}. To wskazuje, iż brak argininy jest w jakiś sposób odpowiedzialny za hiperwentylację kanału wapniowego.

U zwierząt MHS obserwuje się zmiany morfologiczne, mianowicie wyższy poziom czerwonych ciałek we krwi oraz wyższy poziom białek w surowicy przy jednoczesnym niższym poziomie fosforu nieorganicznego (45). Również istotne różnice pomiędzy genotypami obserwuje się w poziomie kortyzolu (p=0,0003), kreatyniny (p=0,0001), aminotransferazy asparaginianowej (p=0,0001) i dehydrogenazy laktozy (p=0,0001) (45).

Mutacja genu RYR1 jest przez hodowców świń traktowana w szczególny sposób. W żargonie hodowlanym gen RYR1 nazywa się często „genem mięsności". Wiąże się to z uznawanym powszechnie pozytywnym wpływem mutacji C→T na rozwój mięśniowy i zawartość mięsa w tuszy (43) oraz z obserwacją, że wysoka frekwencja genu RYR1 występuje u bardzo mięsnych świń pietrain wyhodowanych w Belgii. Zwierzęta tej rasy oraz osobniki pochodzące po knurach pietrain charakteryzują się większą grubością włókien mięśniowych wszystkich typów oraz spadkiem udziału włókien oksydatywnych STO i wzrostem udziału włókien FTG o glikolitycznym charakterze przemian metabolicznych (33). Może to wskazywać na zmianę przebiegu procesów metabolicznych, zmniejszenie ilości uzyskiwanej energii (ATP) oraz nagromadzenie kwasu mlekowego (33).

Zauważa się, że w zależności od pochodzenia świń, występują różnice w częstości mutacji w locus RYR1. U świń rasy pietrain w zależności od kraju, częstość mutacji u francuskiej pietrain wynosi od 31% do 34%, u niemieckiej pietrain (dawne RFN) 87%, u holenderskiej pietrain od 94% do 100% (22, 37).

Sugeruje się, że szczególnie wysoka częstość zmutowanego allelu w locus RYR1 u ras pietrain, landrace i poland china może być związana z intensywną selekcją w kierunku umięśnienia. Jednak u osobników homozygotycznych Hal^{nn} obserwuje się, z jednej strony intensywne odkładanie tkanki mięśniowej, a z drugiej złą jakość surowca rzeźnego (44). Jest to spowodowane tym, że stresowi wywołującemu zaburzenia homeostazy jonów Ca^{2+} w komórce towarzyszy jednoczesny gwałtowny rozpad glikogenu do kwasu mlekowego (beztlenowa glikogenoliza) w mięśniach, przy znacznym obniżeniu poziomu ATP i fosfokreatyny (29). Prowadzi to do przegrzania organizmu, co przy bardzo słabej termoregulacji u świni (gruba warstwa słoniny, nieliczne gruczoły potowe), w efekcie daje metaboliczną kwasicę, przegrzanie całego organizmu i ostatecznie prowadzi do śmierci. Mięso osobników homozygot Hal^{nn} poddanych silnemu stresowi przedubojowemu charakteryzuje się obniżoną wartością technologiczną (niskie pH, niska wodochłonność, jasna, blada barwa).

Wytworzone na drodze pracy hodowlanej współczesne rasy świń odznaczają się zwiększoną syntezą białka (90-125 g dziennie). Zdaniem niektórych autorów (22) jest to związane z dużą aktywnością hormonu wzrostu (GH) – somatotropiny, peptydu syntetyzowanego i uwalnianego z tylnego płata przysadki (4). Stymuluje on wzrost mięśni i syntezę białka, zwiększając jednocześnie oksydację tłuszczów (aktywność lipolityczna) i hamując transport glukozy do tkanek ciała. Gen kodujący hormon wzrostu u świni został zlokalizowany na krótkim ramie-

niu chromosomu 12 (57). Na podstawie badania dwóch stad (Landrace i Edelschwein) nie stwierdzono istotnej interakcji pomiędzy genotypami RYR1 a GH (46).

Ze względu na duży efekt fenotypowy, gen RYR1 zaliczany jest przez hodowców do grupy tzw. genów głównych. Za gen główny uznaje się taki gen, którego efekt fenotypowy jest równy lub większy od jednego standardowego odchylenia wartości fenotypowej analizowanej cechy. W praktyce poszukiwanie genów głównych odbywa się na podstawie porównania wartości fenotypowych homozygot recesywnych (w tym przypadku Hal^{nn}) i homozygot dominujących (tj. w tym przypadku Hal^{NN}). Różnica między nimi winna przekraczać wspomniane jedno odchylenie standardowe. W hodowli zwierząt poszukiwania genów o dużym efekcie są zrozumiałe, gdyż selekcja na gen główny pozwala zwiększyć skuteczność pracy hodowlanej. Dotychczas udało się zidentyfikować następujące geny o dużym efekcie (50): 1) gen RYR1 warunkujący w formie homozygotycznej brak odporności na stres, 2) gen plenności australijskich owiec Booroola, 3) gen podwójnego umięśnienia niektórych ras bydła, 4) gen karłowatości drobiu, 5) gen „k" determinujący szybkość opierzania się kur jednodniówek, 6) gen „s" srebrzystości, wykorzystywany w określaniu płci jednodniowych piskląt kurzych, 7) gen B21 występujący w postaci homozygoty B21/B21, warunkujący odporność na chorobę Mareka. Także gen RN- (Rendement Napole-) u świń (27, 32), który jest odpowiedzialny za charakter i właściwości w procesie przerobu mięsa kwaśnego należy uznać za gen główny. W odróżnieniu od dominującego genu RN-, gen RYR1 jest genem recesywnym, a więc jego ekspresja przejawia się fenotypowo jedynie u homozygot recesywnych.

Pochodzenie mutacji w 1843 nukleotydzie genu RYR1

Według jednej z koncepcji (18) mutacja C→1843T w genie RYR1 u świń mogła pojawić się w jednym stadzie. Przemawiałby za tym fakt, iż szczególnie wysoką frekwencję allelu zmutowanego T stwierdzono u świń pietrain wyhodowanych na niedużym obszarze Belgii. Jednak takie podejście nie wyjaśnia występowania powyższej mutacji także w genie RYR1 u człowieka i, jak można przypuszczać, także u różnych gatunków zwierząt, co zostało stwierdzone w badaniach własnych i wkrótce zostanie opublikowane. Nie można również wykluczyć, że bliższe zrozumienie roli mutacji C→T może wiązać się z dokładniejszym poznaniem jej występowania także u innych gatunków zwierząt.

Piśmiennictwo

1. *Andresen E., Jensen P.*: Nord. Vet. Med. 29, 502, 1977.
2. *Archibald A. L., Imlah P.*: Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 16, 253-263, 1985.
3. *Barańska J., Czarny M.*: Post. Bioch. 37, 129-132, 1991.
4. *Barinaga M., Bilezikjikan L. M., Vale W. W., Rosenfeld M. G., Evans M. G.*: Nature 314, 279-281, 1985.
5. *Britt B. A.*: Malignant hyperhermia. Nijkoff Boston, 1987, s. 11-42.
6. *Britt B. A., Kalow W.*: Can. Anaesth. Soc. J. 17, 293-315, 1970.
7. *Carden A. E., Hill W. G., Webb A. J.*: Anim. Prod. 40, 351-358, 1985.
8. *Chowdhary B. P., Thomsen P. D., Harbitz I., Gustavsson I.*: Cytogen. Cell Genet. 67, 211-214, 1994.
9. *Christensen K., Hauge J.*: Genomics 8, 243-248, 1990.
10. *Davies W., Harbitz I., Fries R., Stranzinger G., Hauge J.*: Anim. Genet. 19, 203-212, 1988.
11. *Deufel T., Sudbrak R., Feist Y., Rubsam B., Du Chesne I., Schafer K. L., Roewer N., Grimm T., Lehmann-Horn F., Hartung E. J., Muller C. R.*: Am. J. Hum. Genet. 56, 1334-1343, 1995.
12. *De Wilde R. O.*: Livest. Prod. Sci., 11, 303-313, 1984.
13. *Eliasson L., Einarsson S., Lundeheim M.*: Influence of halothane genotype and boar presence on puberty in gilts. J. Vet. Med. A., 34, 61-68, 1987.
14. *Ellegren H., Johansson M., Chowdhary B. P., Marklund S., Ruyter D., Marklund L., Nielsen P. B., Edfors-Lilja I., Gustavsson I., Juneja R. K., Andersson L.*: Genomics 16, 431-439, 1993.
15. *Ellis F. R., Halsall P. J.*: Br. J. Hosp. Med. 24, 318-327, 1980.
16. *Endo M.*: Biomed Res. 4, 83, 1983.
17. *Fill M.*: Biophys. J. 50, 471, 1990.
18. *Fujii J., Otsu K., Zorzato F., De Leon S., Khanna V. K., Weiler J. E., O'Brien P. J., Mac Lennan D. H.*: Science 253, 448-451, 1991.
19. *Guerin G., Ollivier L., Sellier P.*: Genet. Sel. Evol. 5, 55-64, 1983.
20. *Harbitz I., Chowdhary B. P., Thomsen P. D., Davies W., Kaufmann U., Kran S., Gustavsson I., Christensen K., Hauge J.*: Genomics 8, 243-248, 1990.
21. *Imlah P.*: Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 11, Suppl. 1, 47, 1980.
22. *Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., Przybylski W.*: Prace i Mat. Zoot. 44, 5-30, 1993.
23. *Kurył J., Wróblewski P.*: Przeg. Hod. 2, 23-25, 1991.
24. *Kurył J., Korwin-Kossakowska A., Koćwin-Podsiadła M.*: Mat. Konf. „Świnie rasy pietrain w Polsce" Poznań 22-23 wrzesień 1994.
25. *Kuźnicki J.*: Kosmos 37, 197-217, 1988.
26. *Kwiatkowska J.*: Post. Bioch. 37, 122-128, 1991.
27. *Le Roy P., Naveau J., Elsen J. M., Sellier P.*: Genet. Res. Cambridge, 55, 33-40, 1990.
28. *MacKanzie A. E.*: Am. J. Hum. Genet. 46, 1082, 1990.
29. *Michell G., Hefron J. J. A.*: Adv. Food. Res., 28, 167-230, 1982.
30. *Monin G., Sellier P.*: Meat Science, 13, 49-63, 1985.
31. *Monin G., Talmant A., Laborde D., Zabari M., Sellier P.*: Meat Science, 16, 307, 1986.
32. *Naveau J.*: J. Res. Porc. Institut Technique du Porc. 265-276, 1986.
33. *Nowak B., Kłosowska D., Ostrowski A., Blicharski T., Komender P.*: Mat. Konf. XII Zjazd PTG, Szczecin, wrzesień 1995.
34. *O'Brien P. J.*: Can. J. Vet. Res. 50, 318, 1986.
35. *O'Brien P. J.*: Vet. Res. Commun. 11, 527, 1987.
36. *Ohnishi S. T., Taylor S., Gronert G. A.*: FEBS lett. 161, 103-107, 1983.
37. *Ollivier L., Sellier P., Monin G.*: Centre for Agricultural and Documentation, Wageningen, Netherlands, 1976.
38. *Ollivier L., Sellier P., Monin G.*: Ann. Genet. Sel. Anim. 7, 159-166, 1975.
39. *Ording H.*: Anaesth. Analg. 64, 700-704, 1985.
40. *Otsu K., Khanna V. K., Archibald A. L., MacLennan D. H.*: Genomics 11, 744-750, 1991.
41. *Rasmusen B. A.*: Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 12, 207-209, 1981.
42. *Rundgren M., Lundstrom K., Edfors-Lilja I., Juneja R. K.*: Livest. Prod. Sci., 26, 137-153, 1990.
43. *Sather A. P., Jones S. D. M., Tong A. K. W.*: Can. J. Anim. Sci. 71, 633-643, 1991.
44. *Sather A. P., Jones S. D. M., Tong A. K. W., Murray A. C.*: Can. J. Anim. Sci. 71, 645-658, 1991.
45. *Schaefer A. L., Doornenbal H., Sather A. P., Tong A. K. W., Jones S. D. M., Murray A. C.*: Can. J. Anim. Sci. 70, 845-855, 1990.
46. *Schellander K., Peli J., Kneissl F., Schmoll F., Mayr B.*: J. Anim. Breed. Genet. 111, 162-166, 1994.
47. *Sellier P., Monin G., Houix Y., Dando P.*: Journees Rech. Porcine en France, 16, 65-74, 1994.
48. *Simpson S. P., Webb A. I., Wilmut I.*: Reprod. Anim. Prod. 43, 485-492, 1986.
49. *Smith C., Bampton P. R.*: Genet. Res. 29, 287-292, 1977.
50. *Szwaczkowski T., Cywa-Benko K.*: Biuletyn Informacyjny IZ, 1-2, 15-20, 1993.
51. *Tretyn A.*: Wapń w komórkach eukariotycznych: występowanie, transport, komórkowy mechanizm wchłaniania. PWN Warszawa, 1994.
52. *Tsien R. W., Tsien R. Y.*: Ann. Rev. Cell Biol., 6, 715-760, 1990.
53. *Van Zeveren A., Van de Weghe A., Bouquet Y., Varewyck H.*: J. Anim. Breed. Genet. 105, 187-194, 1988.
54. *Vetulani J.*: Wapń jako wtórny przekaźnik informacji. w: Molekularne mechanizmy przekazywania sygnałów w komórce. Konarska L., Barańska J., Dembińska-Kieć A., Kamińska-Kaczmarek B., Kwiatkowska-Korczak J., Nałęcz K. A., Sikora E., Skadgiel-Kramska J., Szewczyk A., Trzeciak W. H., Vetulani J. PWN Sp. z o.o., 1995.
55. *Webb A. J., Simpson S. P.*: Anim. Prod. 43, 493-503, 1986.
56. *Willeke R.*: Livest. Prod. Sci. 14, 205-210, 1986.
57. *Yerle M., Lahbib-Mansais Y., Thomsen P. D., Gellin J.*: Animal Genetics 24, 129-131, 1993.

Adres autora: dr Piotr Gronek, Os. Przyjaźni 13/219, 61-687 Poznań