

Metabolismo anaeróbico da glicose e da arginina em *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae; Teleostei) como biomarcador de eutrofização ambiental

ANAEROBIC METABOLISM OF GLUCOSE AND ARGININE IN *HOPLOSTERNUM LITTORALE* (CALLICHTHYIDAE; TELEOSTEI) AS BIOMARKER OF ENVIRONMENTAL EUTROPHIZATION

Teresinha Cristina Alvisus Fernandes Cunha Falci
Edson Rodrigues
Departamento de Ciências Ambientais da Universidade de Taubaté

RESUMO

A presença de concentrações elevadas de metais em meios aquáticos associada à descarga de efluentes industriais e esgoto doméstico pode alterar o metabolismo dos organismos, comprometendo funções vitais e a manutenção da vida das comunidades que compõem o ecossistema. Nesse caso, a toxicidade decorre da interação dos metais com enzimas do metabolismo intermediário, em especial enzimas do metabolismo energético, responsáveis pela manutenção de funções vitais, tais como osmorregulação e propagação do potencial de ação no tecido nervoso. Com o objetivo de entender e identificar possíveis alterações enzimáticas que propiciam a sobrevivência desses espécimes em ambientes eutrofizados, foram conduzidos estudos comparativos sobre o metabolismo anaeróbico e de compostos nitrogenados, com exemplares de peixes coletados em ambientes eutrofizado e não eutrofizado.

As atividades das enzimas lactato desidrogenase hepática e muscular e da arginase hepática do teleosteio *Hoplosternum littorale*, foram estudadas com o objetivo de evidenciar os prováveis mecanismos bioquímicos de adaptação que possam permitir a utilização dessas enzimas como biomarcadoras de ambientes eutrofizados. A estabilidade térmica, o K_m em pH próximo ao fisiológico e o comportamento cinético da arginase hepática na presença do cofator Mn^{2+} foram similares em exemplares coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado. Os valores desses parâmetros foram semelhantes àqueles observados em outros teleosteos já estudados. A atividade da arginase hepática foi estimulada na presença de Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+}

e Ca^{2+} e inibida pelo Zn^{2+} e Cd^{2+} . As atividades da arginase hepática e da lactato desidrogenase muscular foram semelhantes entre os exemplares coletados nos dois tipos de ambiente. Por sua vez, a atividade da lactato desidrogenase hepática foi maior nos exemplares coletados no ambiente eutrofizado, revelando assim a potencialidade dessa enzima como possível biomarcadora de ambientes eutrofizados.

PALAVRAS-CHAVE

Eutrofização. *Hoplosternum littorale*. Biomarcadores. Lactato desidrogenase. Arginase.

INTRODUÇÃO

A ação de poluentes nos sistemas biológicos envolve diversas substâncias e compostos químicos, os quais podem atuar em diferentes níveis hierárquicos do ecossistema. Alterações do comportamento bioquímico e fisiológico dos organismos, as quais representam um desvio da condição metabólica normal, podem ser determinadas mediante técnicas bioquímicas e utilizadas como biomarcadores (OOST et al., 2003).

A presença de xenobióticos em ecossistemas aquáticos não se reflete, necessariamente, em efeitos biológicos. O efeito tóxico dos xenobióticos envolve a conexão dos níveis externos de exposição e níveis teciduais de contaminação, bem como a sua capacidade interativa com os sistemas biológicos. Assim, a sobrecarga de poluentes não degradáveis, não nutritivos e de efeito acumulativo, tais como metais, em ecossistemas aquáticos, pode afetar a vida de

diversos animais e vegetais (SORENSEN, 1991; OOST et al., 2003).

O uso de sinais bioquímicos como biomarcadores de poluentes implica no conhecimento prévio das alterações bioquímicas e do comportamento metabólico, e a atividade enzimática pode ser utilizada como ferramenta biomarcadora de extrema importância. A alocação celular de energia tem sido descrita como um biomarcador rápido e precoce dos efeitos adversos de efluentes tóxicos sobre o metabolismo, antes mesmo que estes tenham se refletido sobre níveis superiores da organização biológica, sendo utilizada como ferramenta para o diagnóstico e avaliação ambiental (REGOLI, 2000; OOST et al., 2003; SMOLDERS et al., 2004).

O efeito de metais sobre os níveis teciduais da lactato desidrogenase (LDH) tem sido objeto de vários estudos envolvendo peixes. O aumento da atividade dessa enzima tem sido observado no fígado, coração e brânquias de *Mugil cephalus* e *Oreochromis niloticus* expostos ao cádmio e *Carpe carpio* ao cobre (HILMY et al., 1985; TÓTH, et al., 1996; ALMEIDA et al., 2001).

Por sua vez, a eutrofização de ambientes aquáticos altera a composição química e proporciona condições nutricionais para o desenvolvimento acelerado da microbiota, a qual aumenta a demanda bioquímica de oxigênio e reduz a disponibilidade do oxigênio dissolvido para a manutenção das necessidades metabólicas da macrobiota, caracterizando situações de hipóxia (WU, 2002).

Estudos sobre capacidade tecidual de utilizar o oxigênio molecular, bem como a sua disponibilidade no meio aquoso, têm evidenciado mecanismos adaptativos de tolerância à hipóxia. Nesse caso, o metabolismo energético, em especial o da glicose, pode ser direcionado para a aerobiose ou anaerobiose, mediante a alteração dos níveis teciduais de enzimas envolvidas com a respiração e fermentação, respectivamente. Peixes adaptados a condições extremas de hipóxia apresentam, normalmente, níveis mais elevados de LDH muscular, os quais podem ser decorrentes do aumento da concentração da enzima ou de formas enzimáticas com valores de K_{cat} elevados (FELLER et al., 1991).

Por outro lado, o metabolismo dos aminoácidos tem sido apontado como um dos sistemas fisiológicos de maior sensibilidade e versatilidade, em resposta a alterações ambientais. Diferente do metabolismo de carboidratos e lipídios, o de aminoácidos não apresenta

um reservatório específico de compostos nitrogenados, o que implica degradação contínua das cadeias carbônicas dos aminoácidos e a conseqüente liberação de amônia, a qual é tóxica. A maioria dos peixes é amoniotética e elimina cerca de 10 a 30% do seu nitrogênio na forma de uréia, o que, provavelmente, é decorrente da degradação da Larginina proveniente da dieta, mediante ação das arginases (FELSKIE et al., 1998; POLEZ et al., 1998).

Com base no exposto acima, o presente trabalho objetivou determinar a atividade das enzimas lactato desidrogenase (hepática e muscular) e arginase (hepática) no teleosteo *Hoplosternum littorale*, em função da eutrofização do ambiente, visando utilizá-las como prováveis biomarcadoras de eutrofização do limnóciclo. O estudo também objetivou caracterizar o efeito da concentração do substrato Larginina e de metais sobre a atividade da arginase hepática.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de *Hoplosternum littorale* de ambiente eutrofizado foram coletados no córrego do Curtume que deságua no Rio Paraíba do Sul, na cidade de Tremembé, ao término da Av. Santa Cruz do Areão (W 45°34'42,81" S 22°57'51,35"), a cerca de 150 m do Rio Paraíba do Sul, o qual recebe esgoto "in natura". Os exemplares de ambiente não eutrofizado foram coletados no córrego da Bomba que deságua no Rio Una, localizado no Sítio Dom Carmelo (W 45°30'3,35" S 23°2'52,51").

Os exemplares de *H. littorale*, popularmente conhecido como vira morro, tamboatá, tamoatá, tamuatá ou cascudo do lodo, foram coletados com tarrafa, totalizando 13 exemplares do ambiente não eutrofizado, pesando $98,0 \pm 31,6$ g, e 12 exemplares do ambiente eutrofizado, pesando $110,0 \pm 18,8$ g. Após a coleta, os peixes foram imediatamente transportados vivos para o laboratório de bioquímica da Universidade de Taubaté - UNITAU, onde foram sacrificados e os tecidos (fígado e músculo) dissecados, lavados com solução fisiológica a 4°C e utilizados em estudos bioquímicos.

Para determinação da atividade e cinética da arginase hepática, cerca de 80% da massa hepática foi homogeneizada em "Potter-Elvehjem", na proporção de 1 g de fígado para 10 mL de tampão HEPES 20 mM, pH 7,0, contendo trimetilamina-N-óxido 1,0 mM; KH_2PO_4 5,0 mM; Sacarose 250 mM e EDTA 0,5 mM (POLEZ et al., 1998). O homogeneizado foi centrifugado a 1.500

x g por 10 min, o precipitado descartado e uma pequena fração do sobrenadante utilizada para determinação da atividade argininolítica. O restante do sobrenadante foi centrifugado a 14.000 x g por 10 min para obtenção da fração mitocondrial. O precipitado foi lavado duas vezes com tampão HEPES e, após a última lavagem, o precipitado foi ressuspensão em tampão HEPES sem EDTA e utilizado para obtenção de extrato mitocondrial, mediante adição de Triton X-100 na concentração final de 0,1% (v/v), seguido de tratamento com ultra-som durante 30 s. O material sonicado foi centrifugado a 14.000 x g durante 10 min e o sobrenadante (extrato mitocondrial) utilizado para determinação da atividade argininolítica e experimentos cinéticos.

Cerca de 20% da massa do fígado, referente a parte inferior do lóbulo hepático direito, bem como 1 g da musculatura epaxial branca, foram utilizadas para obtenção de homogeneizados em "Potter-Elvehjem", na proporção de 1 g de tecido para 10 mL de tampão fosfato 100 mM, pH 7,4. Os homogeneizados foram centrifugados a 14.000 x g e os sobrenadantes, contendo as frações citosólicas, separados e utilizados para determinação da atividade da LDH.

Todas as etapas envolvidas na obtenção de homogeneizados foram conduzidas a 4°C. A concentração de proteínas totais das frações subcelulares foi determinada pelo método descrito por Bradford (1976).

A atividade argininolítica foi determinada em tampão HEPES 10 mM (pH 7,4), contendo L-arginina

100 mM e MnCl₂ 5 mM, a 25°C. A atividade da arginase (pH 9,5) foi determinada em meio, contendo tampão glicina 20 mM, L-arginina 100 mM e MnCl₂ 5 mM, a 25°C. Em ambos os casos a uréia formada na reação foi quantificada pelo método da diacetilmonoxina, como descrito por Geyer & Dabich (1971). A atividade da LDH foi determinada em tampão fosfato 100 mM, (pH 7,4) contendo piruvato de sódio 1,0 mM e NADH+H⁺ 0,14 mM (BERGMEYER, 1974). As atividades enzimáticas foram expressas em Unidade Internacional (UI), definida como a quantidade de enzima que catalisa a conversão de um mol de substrato em produto em um minuto e padronizadas por mg de proteína presente no extrato enzimático.

Os valores médios de atividade da arginase e LDH foram calculados e expressos como Média±Desvio Padrão. As diferenças entre os níveis de atividade teciduais de arginase e LDH encontrados em peixes coletados em ambientes eutrofizados e não eutrofizados foram detectadas pela análise de variância (ANOVA) seguida do teste "a posteriori" de Tukey ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

As atividades médias da arginase hepática e da LDH hepática e muscular, em homogeneizados livres de células, de exemplares de *H. littorale* coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado estão representadas na Figura 1.

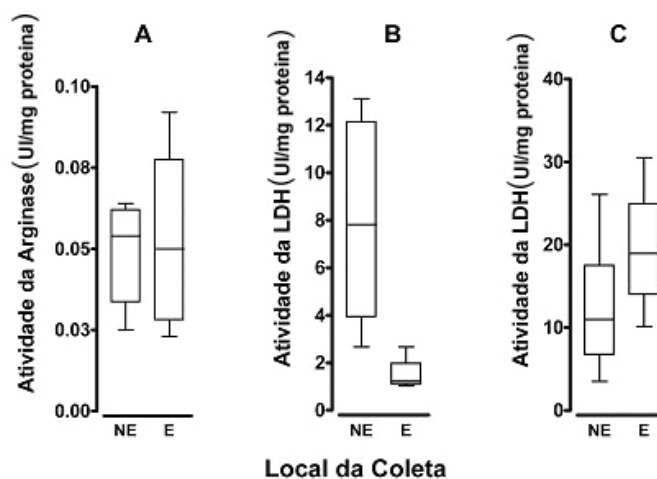


Figura 1. Atividades argininolítica e da LDH em tecidos de *Hoplosternum littorale* coletados nos ambientes eutrofizado (E) e não-eutrofizado (NE). As atividades foram determinadas em extratos de fígado (A e B) e músculo epaxial branco (C). Os dados representam médias ± desvio padrão.

A determinação da atividade arginínolítica em frações subcelulares do tecido hepático revelou que a atividade da arginase está concentrada, preferencialmente, na fração mitocondrial (Fig.1). Dessa forma, os estudos cinéticos foram conduzidos com a arginase hepática extraída da fração mitocondrial.

O melhor resultado de ativação da arginase na presença de Mn^{2+} foi obtido a $55^{\circ}C$, durante 2 min. A

perda de atividade observada no processo de ativação foi de aproximadamente 28%. Esse procedimento também causou desnaturação de proteínas com ganho de atividade específica de 3,6 vezes. Os resultados obtidos com peixes coletados do ambiente eutrofizado foram semelhantes àqueles do ambiente não eutrofizado (Tabela 1).

Tabela 1. Ativação a $55^{\circ}C$ da arginase hepática do peixe *Hoplosternum littorale* coletado em ambiente eutrofizado (Córrego do Curtume).

| Etapas | Volume(mL) | Atividade | |
|---------------------------|------------|------------|--------------------|
| | | Total (UI) | (mUI/mg proteínas) |
| Extrato Mitocondrial | 1,00 | 0,49 | 0,10 |
| Aquecimento $55^{\circ}C$ | 0,75 | 0,35 | 0,36 |

A determinação do valor de K_m da arginase hepática foi realizada com amostras de peixes coletados nos ambientes não eutrofizado e eutrofizado, sendo conduzida em meios de reação contendo concentrações de L-arginina variando entre 0,3 a 40,0 mM. As curvas de saturação foram hiperbólicas e compatíveis com aquelas descritas para enzimas com um único sítio ativo, com valores de K_m foram $7,0 \pm 0,9$ mM e $4,3 \pm 0,6$ mM, respectivamente (Fig 2A).

O efeito do cátion $Mn(II)$, na forma de $MnCl_2$, sobre a atividade da arginase hepática foi estudada em exemplares coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado. Em exemplares do ambiente não eutrofizado a atividade arginínolítica foi parcialmente inibida em concentrações de $MnCl_2$ acima de 4 mM. Em exemplares do ambiente eutrofizado, uma inibição parcial foi observada em concentrações de $MnCl_2$ acima de 6 mM (Fig 2B).

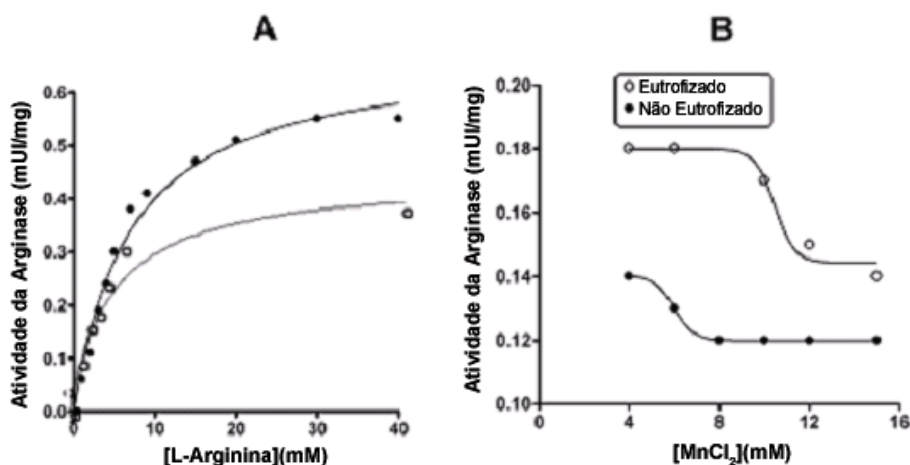


Figura 2. Efeito do substrato L-arginina (A) e do Mn^{2+} (B) sobre a atividade arginínolítica hepática em *Hoplosternum littorale*. As atividades foram determinadas em tampão HEPES 10 mM (pH 7,4) contendo Mn^{2+} 5 mM (A) e L-arginina 100 mM (B).

O efeito de cátions metálicos essenciais e não essenciais sobre a atividade da arginase hepática foi analisado em exemplares, coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado, utilizando-se meio de reação contendo 5 mM de $MnCl_2$. A atividade da arginase, determinada nas condições do meio de reação

padrão (MR), foi então considerada como referência (100%) para os estudos subseqüentes com cátions metálicos.

Os resultados referentes ao efeito de cátions metálicos sobre a atividade da arginase hepática em exemplares coletados nos ambientes não eutrofizado

e eutrofizado estão sumarizados na Figura 3. O efeito de cátions metálicos sobre a atividade da arginase hepática em exemplares coletados no ambiente

eutrofizado foi semelhante àquele obtido em exemplares de ambiente não eutrofizado.

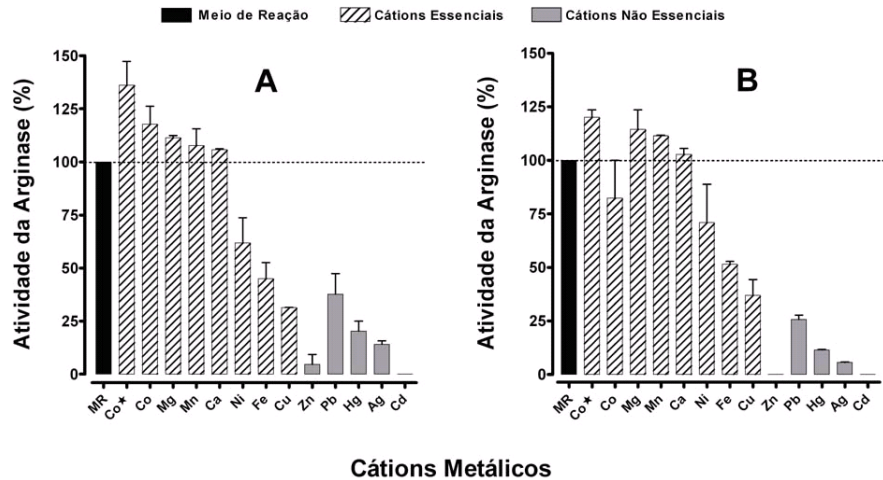


Figura 3. Efeito de cátions metálicos sobre a atividade da arginase hepática de *Hoplosternum littorale* coletados nos ambientes não eutrofizado (A) e eutrofizado (B). A atividade enzimática foi determinada em meio de reação (MR) contendo HEPES 10 mM (pH 7,4), L-arginina 100 mM e MnCl₂ 5 mM, acrescido de cátions divalentes na concentração final de 1 mM. O efeito do Co sobre a atividade da arginase foi avaliado na presença de Mn 5 mM (Co) e na ausência de Mn (Co*).

As atividades das arginases hepáticas dos exemplares de *H. littorale* coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado foram inibidas significativamente ($p < 0,05$) na presença dos cátions essenciais Fe³⁺, Cu²⁺ e Zn²⁺, assim como na presença dos cátions não essenciais Pb²⁺, Hg²⁺, Ag⁺ e Cd²⁺.

As atividades específicas da LDH, determinadas em homogeneizados de músculo epaxial e fígado, de exemplares coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado estão sumarizadas na Figura 4.

A atividade específica da LDH foi determinada em homogeneizados de músculo epaxial e fígado de peixes coletados em ambientes eutrofizado e não eutrofizado. Os valores médios de LDH muscular de peixes coletados no ambiente não eutrofizado ($13,0 \pm 7,6$ UI/mg proteína; $n = 11$) não foram significativamente ($p = 0,2009$) diferentes daqueles coletados no ambiente eutrofizado ($19,3 \pm 7,3$ UI/mg proteína; $n = 5$). Os níveis médios da LDH hepática de peixes coletados no ambiente não eutrofizado ($7,8 \pm 3,8$ UI/mg proteína; $n = 10$) foram significativamente ($p = 0,0017$) maiores do que aqueles encontrados em peixes encontrados em ambiente eutrofizado ($1,5 \pm 0,7$ UI/mg proteína; $n = 4$).

A atividade específica da arginase hepática foi determinada em homogeneizados e extratos mitocondriais de peixes coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado. A atividade arginolítica média, determinada em homogeneizados hepáticos dos peixes coletados no ambiente não eutrofizado ($0,069 \pm 0,51$ UI/mg proteína; $n = 12$) não foi significativamente ($p = 0,9633$) diferente daquela encontrada em peixes coletados no ambiente eutrofizado ($0,038 \pm 0,026$ UI/mg proteína; $n = 9$). A atividade específica média da arginase em extratos mitocondriais foi semelhante ($p = 0,6606$) nos peixes coletados nos ambientes não eutrofizado ($0,71 \pm 0,31$ UI/mg proteína; $n = 12$) e eutrofizado ($0,97 \pm 0,75$ UI/mg proteína; $n = 9$).

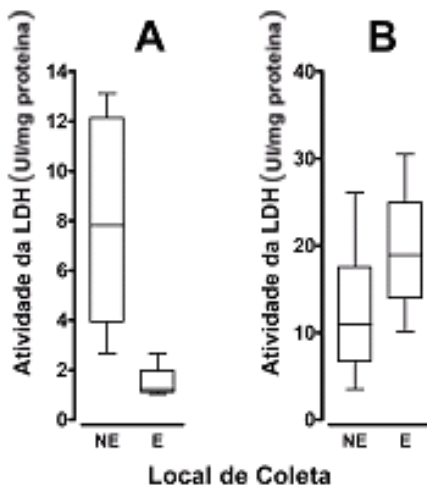


Figura 4. Atividades da LDH hepática (A) e muscular (B) em exemplares de *Hoplosternum littorale* coletados nos ambientes não eutrofizado (NE) e eutrofizado (E).

DISCUSSÃO

Alterações ambientais podem interferir com a expressão gênica e proporcionar o aumento da concentração celular de uma dada enzima, ou mesmo, induzir a síntese de formas isoenzimáticas, as quais normalmente não eram expressas ou expressas em baixas concentrações (HOCHACHKA & SOMERO, 1973, WALKER et al., 1996). O comportamento cinético da arginase hepática de *Hoplosternum littorale*, no que diz respeito ao efeito da concentração de L-arginina e do Mn^{2+} , revelou que as diferenças impostas pelos ambientes eutrofizado e não eutrofizado, não foram capazes de alterar a expressão gênica da arginase, introduzindo formas isoenzimáticas com características cinéticas bem distintas.

Os dados obtidos revelaram que o Mn^{2+} , em baixas concentrações, atua como ativador da arginase hepática. Contudo, em concentrações acima de 6 mM o Mn^{2+} inibe parcialmente (15%) a atividade desta enzima. O perfil inibitório da arginase, em concentrações elevadas de Mn^{2+} , foi semelhante para os peixes coletados em ambientes eutrofizado e não eutrofizado. Da mesma forma, o efeito de cátions divalentes sobre a atividade média da arginase hepática foi similar nos peixes dos ambientes estudados, revelando que a eutrofização ambiental não provocou indução da expressão enzimática.

A arginase hepática de exemplares *Hoplosternum littorale* coletados nos ambientes eutrofizado e não eutrofizado, não apresentou alteração significativa da sua atividade na presença dos metais essenciais Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} e Ni^{2+} , enquanto os metais essenciais Fe^{3+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} , bem como os não essenciais Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{+} e Cd^{2+} , inibiram de forma significativa ($p < 0,05$), diferente daqueles encontrados para a arginase hepática do teleósteo *Merluccius gayi*, a qual é ativada na presença de Mn^{2+} e inibida na presença de Cd^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} e Ni^{2+} em concentração de 2 mM (CARVAJAL et al., 1989). A manutenção da atividade da arginase hepática do teleósteo *H. littorale* na presença de Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} e Ca^{2+} pode representar um efeito compensatório àquele efeito inibitório observado para outros metais essenciais e não essenciais, os quais podem estar aumentados em ambientes eutrofizados. O postulado efeito compensatório, também leva em consideração as elevadas concentrações celulares dos íons metálicos livres de Mg^{2+} , Mn^{2+} e Ca^{2+} , comparadas às concentrações dos demais íons metálicos presentes no interior das células (WILLIAMS & FRAÚSTO da SILVA, 2000).

A atividade de LDH da musculatura epaxial de peixes *Hoplosternum littorale* coletados em ambiente eutrofizado foi semelhante àquela dos exemplares provenientes do ambiente não eutrofizado. Por outro lado, a atividade da LDH hepática dos peixes coletados em ambiente eutrofizado foi significativamente menor do que a atividade no fígado dos peixes coletados em ambiente não eutrofizado. A presença e a distribuição de formas isoenzimáticas da LDH é tecido dependente e está sob o controle da expressão gênica. Na musculatura estriada esquelética, normalmente prevalece a LDH- M_4 , enquanto que o músculo cardíaco tem como isoforma prevalente a H_4 . Geralmente, o fígado apresenta as cinco possíveis formas isoenzimáticas, com elevada capacidade de converter lactato em piruvato, promovendo a gliconeogênese e a manutenção da glicemia (DEVLIN, 2003). Considerando que a atividade da LDH foi determinada no sentido piruvato - lactato, o menor valor médio observado no fígado dos peixes, coletados no ambiente eutrofizado, pode ser decorrente de alteração da expressão gênica das formas isoenzimáticas, favorecendo o metabolismo do ácido láctico, em resposta a provável redução do oxigênio disponível no ambiente eutrofizado do Córrego do Curtume.

Em resumo, a atividade da LDH hepática do teleósteo *H. littorale* foi o único parâmetro analisado que foi capaz de diferenciar os exemplares provenientes dos ambientes não eutrofizado e eutrofizado, sugerindo, portanto, a sua possível utilidade como biomarcador de ambientes eutrofizados.

CONCLUSÕES

A arginase hepática do teleósteo *Hoplosternum littorale* coletado em ambientes eutrofizado e não eutrofizado apresenta propriedades físico-químicas semelhantes àquela dos demais peixes teleósteos, no que se refere à estabilidade térmica e aos valores de K_m , em pH próximo ao fisiológico. O cátion essencial Zn^{2+} e o não essencial Cd^{2+} são inibidores da atividade da arginase hepática em *H. littorale*. O efeito ativador dos cátions metálicos Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} e Ca^{2+} sobre a atividade da arginase hepática de *H. littorale* e a disponibilidade deles em ambientes aquáticos, pode representar um importante mecanismo compensatório contra a inibição promovida pelo Zn^{2+} e metais não essenciais em ambientes eutrofizados. Existe uma redução significativa da atividade da lactato desidrogenase hepática determinada no sentido piruvato

- lactato em *H. littorale* quando este está submetido a um ambiente aquático eutrofizado, o que sugere uma possível utilidade desta enzima como biomarcador inespecífico da exposição a este tipo de ambiente.

ABSTRACT

The presence of elevated concentrations of metals in aquatic environments associated with the discharge of industrial and domestic sewage could change the animal metabolism, affecting vital functions and the maintenance of communities that are part of the ecosystem. In this case, the toxicity is a consequence of the interaction between metals with enzymes associated with the intermediate metabolism, especially those related to the energy metabolism, which are responsible for the maintenance of vital functions, such as osmoregulation and the propagation of electric pulses in the nervous tissue. For a better understanding of the adaptive mechanisms of the fish *Hoplosternum littorale*, surviving in eutrophic environments, comparative studies were conducted on the anaerobic metabolism and the nitrogenous compounds in the teleost fish collected in eutrophic and non eutrophic environments.

The activities of lactate dehydrogenase and arginase were analyzed in the teleost *Hoplosternum littorale* to highlight a possible mechanism of biochemical adaptation to eutrophication. For the hepatic arginase, the thermal stability, K_m at a pH close to the physiological one, and the enzyme kinetics in the presence of the cofactor Mn^{2+} were similar in fish from eutrophic and non-eutrophic environments. The values for those parameters were similar to those found in other teleost fish studied. The hepatic arginase was activated in the presence of Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} and Ca^{2+} , and inhibited by Zn^{2+} and Cd^{2+} . The activities of hepatic arginase and muscular lactate dehydrogenase did not significantly differ in fish collected in the two types of environments. However, the activity of hepatic lactate dehydrogenase was higher in fish from the eutrophic environment than in those from the non-eutrophic, one suggesting a potential use of this enzyme as a biomarker of eutrophic environments.

KEY-WORDS

Eutrophication. *Hoplosternum littorale*. Biomarkers. Lactate dehydrogenase. Arginase.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. A. et al. Environmental cadmium exposure in metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environmental Pollution*, n. 114, p. 169-175, 2001.
- BERGMEYER, H. U. *Methods of enzymatic analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 1974.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, n. 72, p. 248-254, 1976.
- CARVAJAL, N.; KESSI, E.; JEREZ, D. Studies on the control of arginine hydrolysis in the liver of *Merluccius gayi*. *Comparative Biochemistry Physiology*, v. 94b, n. 1, p. 195-199, 1989.
- DEVLIN, M. T. *Manual de bioquímica com correlações clínicas*. São Paulo: Edgard Blucher, 2003.
- FELLER, G. et al. The lactate dehydrogenase of the icefish heart: biochemical adaptations to hypoxia tolerance. *Biochimica et Biophysica Acta*, n. 1079, p. 343-347, 1991.
- FELSKIE, A. K.; ANDERSON, P. M.; WRIGHT, P. A. Expression and activity of carbamoyl phosphate synthetase and ornithine urea cycle enzymes in various tissues of four fish species. *Comparative Biochemistry Physiology*, v. 119b, n. 2, p. 355-364, 1998.
- GEYER, J. W.; DABICH, D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal. Biochem.*, n. 39, p. 412-417, 1971.
- HILMY, A. M.; SHABANA, M. B.; DAABEES, A. Y. Effects of cadmium toxicity upon the in vivo and in vitro activity of proteins and five enzymes in blood serum and tissue homogenates of *Mugil cephalus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, v. 81c, n.1, p. 145-153, 1985.
- HOCHACHKA, P. W.; SOMERO, G. N. *Strategies of biochemical adaptation*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1973.

OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, n. 13, p. 57-149, 2003.

POLEZ, V. L. P.; MONZANI, P. S.; MORAES, G. The urea cycle glutamine synthetase, carbomoyl phosphatase synthetase and argininase from thr freshwater teleost fish *Hoplerythrinus unitaeatus*, *Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*: comparison and enzyme compartmentalization. *Journal of Comparative Biology*, v. 3, n. 2, p. 185-191, 1998.

REGOLI, F. Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aquatic Toxicology*, n. 50, p. 351-361, 2000.

SMOLDERS, R. et al. Cellular energy allocation in zebra mussels exposed along a pollution gradient: linking cellular effects to higher levels of biological organization. *Environmental Pollution*, n. 129, p. 99-112, 2004.

SORENSEN, E. M. B. *Metal poisoning in fish*. Boca Raton: CRC-Press, 1991.

TÓTH, L. et al. Some effect of CuSO₄ on carp. *Journal Environmental Science and Health*, v. 31b, n. 3, p. 627-635, 1996.

WALKER, C. H. et al. *Principles of ecotoxicology*. Reading: University of Reading, School of Animal and Microbial Sciences, 1996.

WILLIAMS, R. J. P.; FRAÚSTO da SILVA, J. J. R. The distribution of elements in cells. *Coordenation Chemistry Reviews*, v. 200-202, p. 247-348, 2000.

WU, R. S. S. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Marine Pollution Bulletin*, v. 45, p. 35-45, 2002.

Teresinha Cristina Alvissus Fernandes Cunha Falci
Francisco Rizzini, 170
Jair Freire - Taubaté
CEP - 12061-680
e-mail: pracris@terra.com.br

TRAMITAÇÃO

Artigo recebido em: 03/02/2006
Aceito para publicação em: 09/05/2007