

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS TRANSAMINASAS GOT Y GPT EN *AMEGHINOMYA ANTIQUA* (MOLLUSCA: VENERIDAE) EN DOS SECTORES DE LA REGIÓN DEL BIO-BIO.

A COMPARATION OF GOT AND GPT TRANSAMINASES ACTIVITY IN *AMEGHINOMYA ANTIQUA* (MOLLUSCA: VENERIDAE) IN TWO PLACES OF BIO-BIO REGION.

José Constanzo A. y Carmen G. Narváez C.*

RESUMEN

El estudio de las transaminasas glutámico pirúvica (GPT) y glutámico oxalacética (GOT) en moluscos, se ha orientado específicamente a su rol en la osmorregulación, en la que proveen la mayor parte de los aminoácidos libres que participan en estos procesos. Existen antecedentes respecto al comportamiento de estas enzimas frente a xenobióticos y a metales pesados, lo que provoca alteración en su funcionalidad biológica.

Dado lo anterior y con el objetivo de obtener valores de línea base para la actividad de transaminasas, se midió la actividad GOT, GPT y Proteínas totales en *Ameghinomya antiqua*, proveniente una zona con elevada alteración antrópica y otra como zona control.

Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas ($p < 0,05$), en lo que respecta a la actividad específica de GOT y GPT en hemolinfa de *A. antiqua*, siendo mayor en B.Concepción ($14,3 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $32,55 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$), respecto a B.Coliumo ($6,85 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $2,27(\mu\text{olL}^{-1}\text{g}^{-1})$).

Los valores de proteínas totales también muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) en la hemolinfa de *A. antiqua* para los dos sectores, siendo en este caso mayor en B.Coliumo ($24,85 \text{gL}^{-1}$) que en B.Concepción ($16,9 \text{gL}^{-1}$).

Probablemente el aumento de la actividad de las transaminasas GOT y GPT en la hemolinfa de *A. antiqua* de B. Concepción, se deba a la pérdida en la integridad celular del hepatopáncreas, posiblemente inducida por contaminantes, pero se sugiere estudios posteriores para confirmar este supuesto o validar con ensayos en laboratorio.

Palabras claves: Transaminación, Bivalvos, *Ameghinomya antiqua*.

ABSTRACT

In mollusk, transaminases Glutamic Piruvic (GPT) and Glutamic Oxalacetic (GOT) have an important function in the osmorregulatory processes, providing free aminoacids. Alterations in its functionality seem to be in connection with the presence of xenobiotics and heavy metals in the environment.

In this work, we pretend to determine a base line for the transaminases activity in a bivalve mollusk. We determined the activity for GOT and GPT and totals proteins concentration in the edible clam *Ameghinomya antiqua* in two places of Bio Bio Region, a polluted area and control area.

The results showed differences to specific activity in GOT ($14,3 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$ Concepción. B.; $32,55 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$ Coliumo. B) and GPT ($6,85 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$, Concepción. B; $2,27 \mu\text{molL}^{-1}\text{g}^{-1}$ Coliumo. B to *A. antiqua* hemolymph. Totals proteins have significant differences in *A. antiqua* for both areas, Coliumo. B ($24,85 \text{gL}^{-1}$) and Concepción B. ($16,9 \text{gL}^{-1}$).

Probably, the high enzymatic activity in hemolymph is due to hepatocellular injury, induced for environmental contamination in the area.

Key words: Transamination, Bivalves, *Ameghinomya antiqua*.

*Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Sma. Concepción, Casilla 297, Concepción, Chile.

INTRODUCCION

En el último tiempo, dada la necesidad de detectar y evaluar el impacto de la acci3n antr3pica sobre los organismos del sistema acuático, se ha orientado la búsqueda y utilizaci3n de cambios fisiol3gicos, bioquímicos e histol3gicos en los organismos, a un nivel que permita tomar medidas de prevenci3n, así como tambi3n estimar los efectos resultantes de las emisiones antr3picas.

Estos estudios se han orientado preferentemente a especies denominadas marcadoras o centinelas, que generalmente son especies en peligro de extinci3n o especies conspicuas de alto nivel tr3fico como mamíferos, aves y peces. S3lo recientemente se ha dado cierto inter3s a la utilizaci3n de organismos invertebrados como marcadores (Fossi, 1997).

El molusco bivalvo *Ameghinomya antiqua* (King, 1831), es una especie de gran importancia econ3mica, con una amplia distribuci3n geográfica, que abarca toda la costa sudamericana, desde el Perú hasta el estrecho de Magallanes (Lorenzen *et al.*, 1978). Su habitat está restringido a las zonas arenosas, bajo el nivel de las bajas mareas. Debido a su rápido crecimiento, esta especie es intensamente explotada. En la regi3n del Bio-Bío, *A. antiqua* representa un importante recurso que es explotado en forma artesanal (Castilla *et al.*, 1976).

Considerando que Bahía Concepci3n, presenta un alto impacto antr3pico, derivado mayormente del vertimiento de residuos industriales líquidos, por la industria pesquera y elevadas concentraciones de xenobi3ticos y metales pesados como el cadmio (Carrera *et al.*, 1993), se puede obtener valiosa informaci3n, respecto al comportamiento fisiol3gico de *A. antiqua* en este medio, mediante el estudio de marcadores moleculares de efecto subletal o biomarcadores.

Dentro de los biomarcadores empleados para demostrar alteraciones hepáticas por contaminantes en peces y mamíferos se han utilizado, entre otros las transaminasas Glutámico Oxalacética (GOT) y Glutámico Pirúvica (GPT), en estudios que involucran la exposici3n a fenol, pesticidas y metales pesados (Guilhermino *et al.*, 1998)

En invertebrados marinos, tambi3n se ha demostrado el uso de las transaminasas como biomarcadores de exposici3n a cadmio (Narvaez *et al.*, datos no publicados). En los moluscos estas enzimas están involucradas además

en los mecanismos de osmorregulaci3n (Somero, 1983).

La GOT y GPT son enzimas ampliamente distribuidas en los organismos superiores, cuya mayor actividad se localiza en hígado y coraz3n. Participan en el metabolismo de los l-aminoácidos, transfiriendo un grupo α -amino en un α -cetoácido, en una de las reacciones más importantes del metabolismo proteico (Wright, 1995).

Se esperaría que la actividad basal de las transaminasas GOT y GPT fuera mayor en aquellas áreas que presentan un elevado impacto antr3pico; por lo tanto el objetivo general de este estudio fue establecer valores de línea base para las transaminasas GOT y GPT, en el bivalvo *Ameghinomya antiqua* procedente de dos sectores de la regi3n del Bio-Bío: Bahía Concepci3n, zona con elevado impacto antr3pico y Bahía Coliumo, lugar menos impactado (Carrera *et al.*, 1993) respectivamente. Para ello se realiz3 una comparaci3n de la actividad de las transaminasas GOT y GPT, y se determin3 la concentraci3n de proteínas totales en la hemolinfa y hepatopáncreas de *Ameghinomya antiqua* en los dos sectores seleccionados.

MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron sesenta individuos adultos de cada zona de estudio pertenecientes a *Ameghinomya antiqua*, mediante buceo aut3nomo, desde las localidades de Punta de Parra (Lirqu3n) perteneciente a Bahía Concepci3n (36 40' 6" S; 73 59' 12" W) y Caleta Cocholgue en Bahía Coliumo (36 32' S, 72 57' W) (Fig.1).

Los individuos fueron medidos (0,01 \pm 0,005 cm) y pesados (0,01 \pm 0,005 g), posteriormente se aclimataron durante 48 horas en acuarios de 5,5 litros de capacidad con agua de mar filtrada (0,25 μ m), aireaci3n constante, fotoperíodo de 12:12, salinidad de 0,24% y 12 grados Celcius de temperatura, en inanici3n. Durante la aclimataci3n la supervivencia fue de 100%.

Para la medici3n de la actividad de GOT y GPT, y la determinaci3n de proteínas totales se extrajo un volumen de 0,5 ml de hemolinfa mediante una punci3n en el coraz3n linfático, además s3 disect3 la glándula digestiva, se homogeniz3 en tamp3n Tris 0,1 M, pH 7,3, para posteriormente centrifugar a 3000 r.p.m. durante 10 minutos a 4C. El sobrenadante fue mantenido en hielo durante el análisis. Las muestras de hemolinfa y hepatopáncreas se analizaron inmediatamente.

Determinación de la actividad enzimática y concentración de proteínas totales

El análisis de Transaminasas se realizó, utilizando el método colorimétrico de Reitman y Frankel (Frankel, 1970) en un Espectrofotómetro Sequoia Turner 690 UV-Visible. Este método utilizó como sustrato para GOT, l-aspartato 100 mM, y α -cetoglutarato 2 mM en tampón fosfato 100 mM, pH 7,4. El sustrato utilizado para GPT consistió en dl-alanina 200 mM y α -cetoglutarato 2 mM en tampón fosfato 100 mM, pH 7,4. La reacción enzimática procedió a 37°C y se detuvo a los 30 minutos con 2,4 dinitrofenilhidrazina 1mM. La actividad enzimática de GOT y GPT, fue expresada en $\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$.

La concentración de proteínas totales fue determinada en hemolinfa y hepatopáncreas de *A. antiqua*, a través del método colorimétrico de Biuret con un kit diagnóstico de Biosystem (COD 11500).

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el test estadístico t (Siegel & Castellán 1988) usando el software STATISTICA-98 (Statsoft 1998).

RESULTADOS

La actividad de GOT y GPT (n=60), es mayor en la hemolinfa de *A. antiqua* de B. Concepción (14,3 $\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$ y 32,55 $\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$), en relación a B.Coliumo (6,85 (molL⁻¹g⁻¹ y 2,27 $\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$),

existiendo diferencias significativas en la actividad específica de GOT(p= 0,0024) y GPT(p= 0,0207respectivamente) (Fig.2).

Se observan diferencias significativas (p=0,0070), para la actividad específica de GOT en hepatopáncreas entre los individuos pertenecientes a Bahía Concepción y Bahía Coliumo. También se evidencia diferencias significativas en la actividad específica de GPT (p = 0,000026), en hepatopáncreas de *Ameghinomya antiqua* para los dos sectores en estudio. La actividad de GOT y GPT (n=60) es mayor en hepatopáncreas de *A. antiqua* de B. Concepción con relación a B.Coliumo (Fig .3).

Los valores de proteínas totales muestran diferencias significativas en la hemolinfa (p=

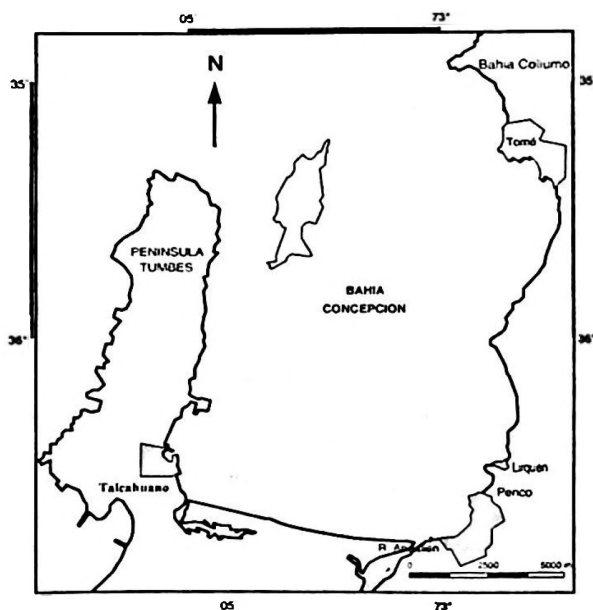


FIGURA 1. Sitios de muestreo de los ejemplares adultos de *Ameghinomya antiqua*.
 FIGURE 1. Collection places of *Ameghinomya antiqua* adults individuals

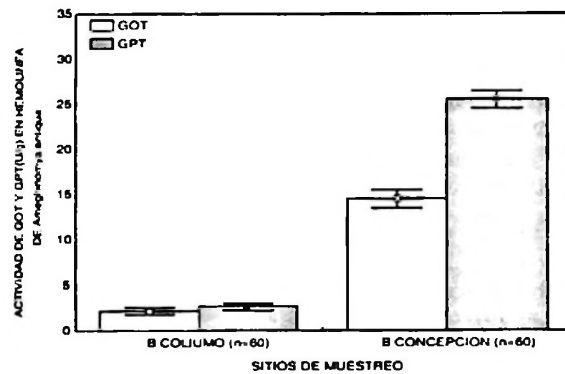


FIGURA 2. Actividad específica de got y gpt ($\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$) en hemolinfa de *Ameghinomya Antiqua*, en dos áreas de la region del bio-bio (x± E.E. N=60).
 FIGURE 2. Got and gpt specific activity ($\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$) in hemolymph of *Ameghinomya antiqua*, in two places of biobio region (x±E.E. N=60).

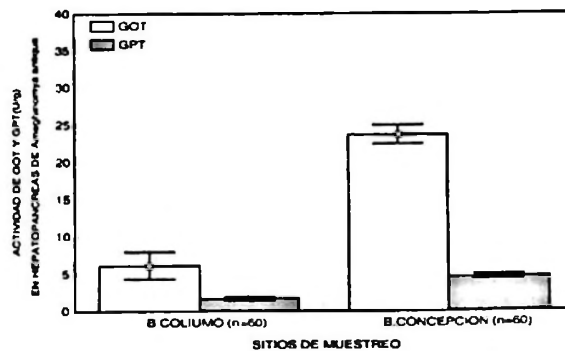


FIGURA 3. Actividad específica de got y gpt ($\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$) en hepatopaneas de *Ameghinomya antiqua*, en dos áreas de la región del bio-bío (x±E.E. N=60).
 FIGURE 3. Got and gpt specific activity ($\mu\text{mol L}^{-1}\text{g}^{-1}$) in digestive gland of *Ameghinomya antiqua* in two places of biobio region (x±E.E. N=60).

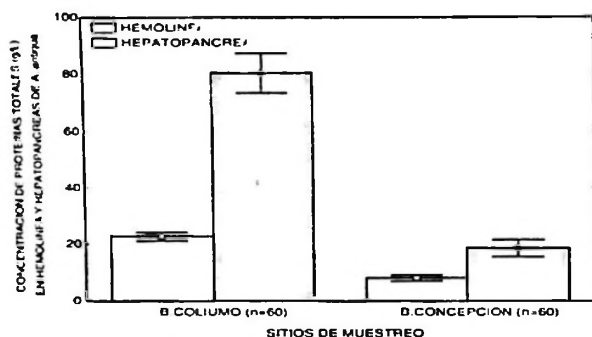


FIGURA 4. Concentración de proteínas totales en hemolinfa y hepatopancreas (g L^{-1}) DE *Ameghinomya antiqua*, en dos áreas de la región del bio-bio ($\bar{x} \pm \text{E.E.}$, $N=60$).

FIGURE 4. Total protein concentration in hemolymph and digestive gland of *Ameghinomya antiqua* in two places of biobio region ($\bar{x} \pm \text{E.E.}$, $N=60$).

0,000020) y hepatopáncreas ($p=0,00001$) de *A. antiqua* para los dos sectores en estudio (Fig 4), siendo en este caso mayor en B.Coliumo ($24,85 \text{ g L}^{-1}$) que en B.Concepción ($16,9 \text{ g L}^{-1}$).

DISCUSION

Se ha descrito que un valor elevado en los niveles de transaminasas séricas es indicio de alteraciones en los órganos en los cuales se encuentran abundantemente. En estudios referidos a teleosteos, la elevada actividad de transaminasas indica daño tisular por exposición a pesticidas que además afectan el metabolismo de proteínas y carbohidratos (Sivakumari *et al.*, 1997). En invertebrados también se ha utilizado la actividad de transaminasas como indicadora de daño en tejidos (Nussetti *et al.*, 1998, Alvarez *et al.*, manuscrito en preparación). En este estudio, los valores de actividad enzimática de GOT y GPT, en hemolinfa (Fig. 2) y hepatopáncreas de *A. antiqua* (Fig.3) presentan diferencias significativas para las dos zonas de estudio, siendo muy superiores en B.Concepción

Las diferencias observadas, en la actividad de GOT y GPT para las dos zonas en estudio, pueden ser explicadas en función de la alteración antrópica existente en las zonas, puesto que se ha comprobado, que existe una correlación positiva entre la elevada actividad de transaminasas séricas y ambientes poluidos. (Adham *et al.*, 1997). Para *A. antiqua*, los valores obtenidos en la actividad de transaminasas en hemolinfa indican este posible daño, más evidente en la zona con mayor alteración antrópica.

En animales superiores, el daño hepático crónico se caracteriza por una elevación en los niveles séricos de GPT por sobre los niveles de GOT (Racicot *et al.*, 1974). Aunque no existe data referente a este comportamiento en invertebrados, en este estudio se observa el aumento de GPT sobre GOT. Esto se aprecia en la Fig. 2 para los individuos pertenecientes a B.Concepción. En los individuos pertenecientes a B. Coliumo los niveles de GOT son levemente superiores a los de GPT. Esto ocurre en condiciones de normalidad fisiológica en vertebrados (Racicot *et al.*, 1974). En invertebrados se ha observado un comportamiento similar (Nussetti *et al.*, 1998 Kumar *et al.*, 1997).

La alta actividad de GOT y GPT en hepatopáncreas de los individuos de *A. antiqua* pertenecientes a B.Concepción (Fig.3) se podría correlacionar con la elevada actividad de estas enzimas presentes en el tejido hepático de organismos superiores que han sido expuestos a tóxicos organometálicos (Racicot *et al.*, 1974), pesticidas (Philip & Rajasree, 1996) y metales pesados, siempre a expensas de pérdida de integridad celular y alteración en la concentración de las proteínas totales (Philip & Rajasree, 1996). El hígado parece ser uno de los órganos blanco para el Cadmio en mamíferos, observándose un fuerte aumento de GPT sérica en ratas expuestas al metal (Guilhermino *et al.*, 1998)

Se ha descrito que el aporte energético entregado por las proteínas para los bivalvos corresponde a una mínima fracción de sus requerimientos (Byrne & Dietz, 1997), esto podría entenderse como un aporte dispensable de energía. Sin embargo, las proteínas, fundamentalmente albúmina, están encargadas del transporte de solutos, y tienen un rol importante en los mecanismos de osmorregulación (Wright, 1995). En la zona considerada más contaminada, la concentración de proteínas totales en hemolinfa de *A. antiqua* es significativamente inferior a la concentración de proteínas en hemolinfa de *A. antiqua* de la zona considerada control (Fig. 5). La disminución de las proteínas totales se debería a la disminución de albúmina, traducida en daño hepático (Guilhermino *et al.*, 1998)

Esto se traduce en alteraciones en los mecanismos descritos, sin dejar de considerar que el aporte energético, aunque sea mínimo, se verá afectado de igual manera.

Se sugiere como causante de la diferencia en los niveles de transaminasas, la mayor alteración antrópica existente en B. Concepción, ba-

sados en estudios de laboratorio que indican que la exposición de *A. antiqua* a metales afecta la actividad de las transaminasas (Alvarez *et al.*, datos no publicados).

LITERATURA CITADA

- ADHAM, K., A.KHAIRALLA, M. ABU-SHABANA, N.ABDEL-MAGUID, & A. ABDEL MONEIM.1997. Environmental stress in Lake Maryut and physiological response of tilapia zilli Gerv. J. Environ. Sci. Health, Pt. A: Environ.Sci.Eng.Toxic Hazard. Subst. Control. Vol 32 A. 9-10 : 2585-259
- BYRNE, R.; & T. DIETZ. 1997. Ion transport and acid-base balance in freshwater bivalves. The J. of Experiment. Biol. 200:457-465.
- CASTILLA, J, B. SANTELICES & R. BECERRA.1976. Guía para la observación e identificación de Mariscos y Algas comerciales en Chile. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad Católica de Chile Eds. pp. 12-17.
- CARRERA, M. E., V. RODRÍGUEZ, R. AHUMADA, & P. VALENTA. 1993. Metales traza en la columna de agua y sedimentos blandos en bahía Concepción, Chile. Determinación mediante voltametría de redisolución. Rev. Biol. Mar. Valparaiso, 28 (1): 151-163.
- FOSSI, M. C; C. SAVELLI; S. CASINI; E. FRANCHI; N. MATTEI & Y. CORSI. 1997. Multi-response biomarker approach in the crab *Carcinus aestuarii* experimentally exposed to benzo (a) pyrene, polychlorobifenylyls and metyl-mercury. Biomarkers, 2:311-319.
- FRANKEL, S., 1970. Gradwohl's Clinical laboratory methods and diagnostic. Vol 1: 123. Frankel, Reitman & Sonnenwirth Eds. 7ªEd.
- GUILHERMINO, L., A. M. SOARES; P. CARVALHO & M.C.LOPES.1998.Effects of Cadmium and Parathion Exposure on Hematology and Blood Biochemistry of Adult Male Rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 60: 52-59.
- KUMAR, R, A. MUNI. 1997. Chronic metabolic effect of ammonia on aminotranferases in a few tissues of freshwater teleost *Channa punctatus* (Bloch). J.Ecotoxicol. Environ.Monitoring. Vol 7. 3: 201-205.
- LORENZEN, S, C. GALLARDO, C. JARA, E. CLANSING, G. PEQUEÑO, C. MORENO., 1978. Mariscos y Peces de Importancia Comercial en el Sur de Chile. Universidad Austral de Chile Eds. pp. 41-42
- NUSETTI, O., R. SALAZAR-LUGO, J. RODRÍGUEZ-GRAU & J. VILAS. 1998. Immune and biochemical responses of the polychaete *Eurythoe complanata* exposed to sublethal concentration of copper. Comp. Biochem. Pysiol., C. Vol. 119 C. 2 : 177-183.
- PHILIP, G .H., B. H. RAJASREE. 1996. Action of cypermethrin on tissue transamination during nitrogen metabolism in *Cyprinus carpiu*. .Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol 34 N°2: 174-179.
- RACICOT, J.C, M. GAUDET & C. LERAY. 1974. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: Study of CCl4 toxicity and a case of *Aeromonas* infection. J. Fish. Biol. 7: 825-835
- SIVAKUMARI, K, R. MANAVALARAMANUJAM, M. RAMESH, & R. LAKSHMI.1997. Cypermethrin toxicity: Sublethal effects on enzyme activities in a freshwater fish, *Cyprinus carpio* var. Communis. J. Environ. Biol. Vol 18. :121-125
- SIEGEL S. & N. J. CASTELLAN 1988 Nonparametrics statistics for the behavioural sciences. 2ª Ed. McGraw & Hill Book Company.
- SOMERO, G. N. & D. BOWLUS. 1983. Osmolytes and Metabolic End Products of Mollusc: The Design of Compatible Solute Systems. In The Mollusca: Environmental Biochemistry and Physiology. Hochachka, P.W. Eds. Academic Press, Vol II pp. 94-96
- WRIGHT,P.1995.Nitrogen Excretion: Three End Products, Many Physiological Roles. The J. of Experiment. Biol.. 198:273-281.

