

Voltamperometría cíclica aplicada para determinar la reactividad de la Hemozoina y β -Hemozoina de la chinche besucona *T. longipennis*.
Reyes-Cruz Victor E.^{1*}, Urbano Reyes Gustavo¹, Veloz Rodríguez María Aurora¹,
Imbert Palafox José Luis².

¹Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, ICBI, UAEH. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca. Hidalgo, México, CP 42184

²Área Académica de Medicina, ICESA, UAEH Carr. Pachuca-Actopan, Pachuca. Hidalgo, México, CP 42184

^{1*}E-mail: reyesacruz16@yahoo.com

El hemo libre es un generador poderoso de especies oxígeno reactivas que pueden dañar muchas moléculas biológicas. El grupo hemo liberado de la digestión de la hemoglobina que se encuentra en los eritrocitos infectados con parásitos de malaria ó en el intestino del insecto Haemiptero *Rhodnius prolixus*, se agrega en un material insoluble llamado pigmento de malaria conocido también como hemozoina. La unión de 2 hemozoinas se efectúa entre el primer ión ferrico del primer hemo y el oxígeno del grupo lateral carboxilato del segundo, formando un producto insoluble, denominado β -hemozoina.

Los potenciales oxidantes de estas moléculas se ha determinado de manera indirecta a través de ensayos biológicos, y no puede afirmarse que realmente sea así. Estos estudio mencionan que la molécula más reactiva es la hemozoina o el grupo hemo. En este trabajo con la técnica de voltamperometría cíclica y electrodos de pasta de carbono se determinan la reactividad directamente (procesos Oxido-Reducción) de la hemozoina y la β -hemozoina provenientes del triatoma *T. Longipennis*. Los resultados indican que la β -hemozoina es más reactiva que la hemozoina ya que la densidad de corriente del proceso de oxidación de la β -hemozoina es aproximadamente 76 veces más que la densidad de corriente de la hemozoina (25 mA cm⁻² y 0.75 mA cm⁻²). Estos resultados sugieren por una parte que los ensayos biológicos no muestran los procesos oxido reducción reales ó que las moléculas biológicas (fosfolipido, Nucleicos, Etc.) están en un ambiente más oxidante debido a la presencia de la β -hemozoina. Esto puede dar lugar a que β -hemozoina se asocie con bicapas de fosfolipidos e interfiere con su integridad física y al rompimiento de membranas.

Palabras clave: hemozoina, β -hemozoina, electrodos de pasta de carbón, reactividad.

Voltamperometría cíclica aplicada para determinar la reactividad de la Hemozoina y β -Hemozoina de la chinche besucona *T. longipennis*. Reyes-Cruz Victor E.^{1*}, Urbano Reyes Gustavo¹, Veloz Rodríguez María Aurora¹, Imbert Palafox José Luis².

¹Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, ICBI, UAEH. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca. Hidalgo, México, CP 42184

²Área Académica de Medicina, ICSA, UAEH Carr. Pachuca-Actopan, Pachuca. Hidalgo, México, CP 42184

^{1*}E-mail: reyesacruz16@yahoo.com

Palabras clave: hemozoina, β -hemozoina, electrodos de pasta de carbón, reactividad.

1. Introducción

El grupo hemo liberado de la digestión de la hemoglobina que se encuentra en los eritrocitos infectados con parásitos de malaria [1-3] ó en el intestino del insecto Haemiptero *Rhodnius prolixus* [4], se agrega en un material insoluble llamado pigmento de malaria conocido también como hemozoina. La unión de 2 hemozoinas se efectúa entre el primer ión ferrico del primer hemo y el oxígeno del grupo lateral carboxilato del segundo, formando un producto insoluble, denominado β -hemozoina, figura1, proveyendo de una forma única de evitar la toxicidad asociada con el soluble grupo hemo.

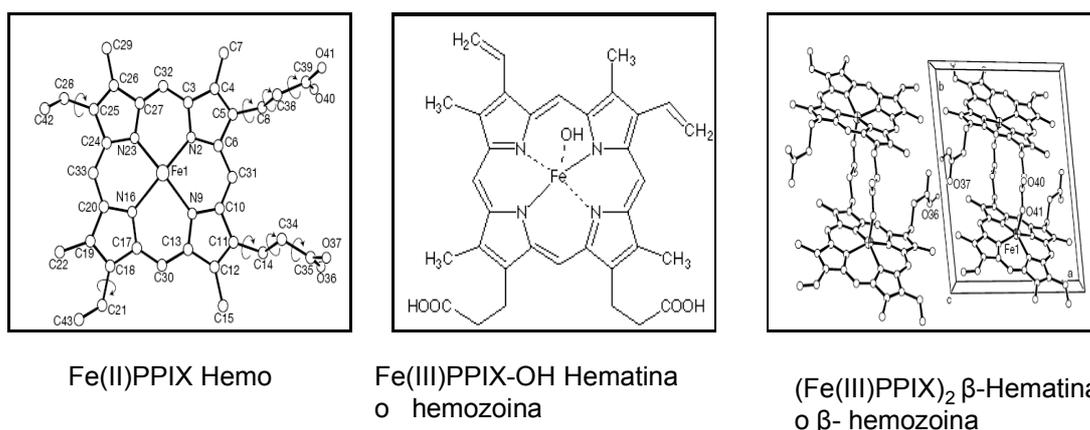


Figura 1. Las diferentes estructuras del grupo hemo.

El hemo libre es un generador poderoso de especies oxígeno reactivas que pueden dañar muchas moléculas biológicas. Además, debido a su naturaleza, el hemo se asocia con bicapas de fosfolípidos e interfiere con su integridad física, lo

que puede llevar al rompimiento de membranas. No está claro el mecanismo por el cual se detoxifica y tampoco la acción de las drogas anti-malaria como la cloroquina, la cual se ha propuesto que interacciona con estas moléculas.

Los potenciales oxidantes de estas moléculas se ha determinado de manera indirecta a través de ensayos biológicos, y no puede afirmarse que realmente sea así. Estos estudios mencionan que la molécula más reactiva es la hemozoina o el grupo hemo.

Los electrodos de pasta de carbono utilizados con la técnica voltamperometría en una solución de 0.1 M NaNO₃ y un pH de 6.5 ha permitido determinar la reactividad de sulfuros minerales. Es por ello que en este trabajo se utiliza este arreglo para determinar la reactividad directamente de: i) la hemozoina y la β-hemozoina provenientes del triatoma *T. Longipennis* y ii) la hemozoina y la β-hemozoina proveniente de Beckton & Dickinson®.

2. Experimental

Para los estudios electroquímicos, se utilizó una celda típica de tres electrodos a temperatura ambiente y acondicionada para mantener una atmósfera inerte (con nitrógeno). Como contraelectrodo se utilizó una barra sólida de grafito. Como electrodo de referencia se utilizó un electrodo saturado de sulfatos (SSE) Hg/Hg₂SO_{4(s)}/K₂SO_{4(sat)} [E = 615 mV vs SHE], inmerso en un capilar de Luggin. Todos los valores de potencial fueron convertidos a la escala del electrodo estándar de hidrógeno (SHE, sumando 0.615 Volts).

Para preparar los electrodos de trabajo (CPE) se mezclaron cuidadosamente 0.5 g de grafito y 0.5 g de muestra (Hemozoina y β-hemozoina proveniente de *T. longipennis* así como las empleadas como control proveniente de Beckton & Dickinson®) con 0.2 ml de aceite de silicón, hasta homogeneizar en un mortero de ágata. La pasta resultante se colocó dentro de un tubo de 7 cm de longitud con 0.2 cm de diámetro interno, el cual tiene la función de contenedor del electrodo de trabajo. La superficie del electrodo fue renovada y homogeneizada antes de cada experimento.

La solución utilizada como electrolito fue 0.1 M NaNO_3 (pH 6.5, ajustado con HNO_3). Para lo cual se utilizó agua desionizada con una resistencia específica de $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, los reactivos utilizados fueron de grado analítico. El electrolito fue burbujeado previamente y mantenido con atmósfera de nitrógeno durante todos los experimentos.

Para la realización de los estudios electroquímicos se utiliza un equipo potenciostato-galvanostato de la marca PAR, modelo 263A conectado a una PC. El manejo de las técnicas se realiza mediante el software proporcionado por la misma compañía. Las densidades de corriente fueron calculadas dividiendo la corriente entre el área de la sección transversal (0.0314 cm^2) de la superficie del electrodo de trabajo, con la que se está en contacto con el electrolito.

2. Discusión de resultados

En la figura 2 y 3 se muestran las respuestas voltamperométricas de i) la Hemozoina y la β -Hemozoina provenientes del control Beckton & Dickinson® y ii) la Hemozoina y la β -Hemozoina proveniente del triatoma *T. Longipennis* respectivamente.

En la figura 2 se observa que la respuesta voltamperométrica del CPE-Hemozoina proveniente del control (línea gris) presenta 1 proceso de oxidación que comienza en un potencial de 0.63 V (ver ampliación). Es importante mencionar que el incremento en la densidad de corriente observado es un comportamiento típico de los electrodos de pasta de carbono en este medio[5-6]. Al invertir el barrido de potencial se observa sólo un proceso de reducción en el intervalo de potencial de 0.29V a -0.82V . Mientras que la respuesta voltamperométrica del CPE- β Hemozoina proveniente del control (línea negra) en el barrido directo presenta un proceso de oxidación que comienza en el mismo potencial de la Hemozoina (0.63V, ver ampliación). Además se observa que al invertir el barrido de potencial se tienen 2 procesos de reducción uno en el

intervalo de 0.3V a -0.4 V y otro en el intervalo de -0.4V a -0.9V.

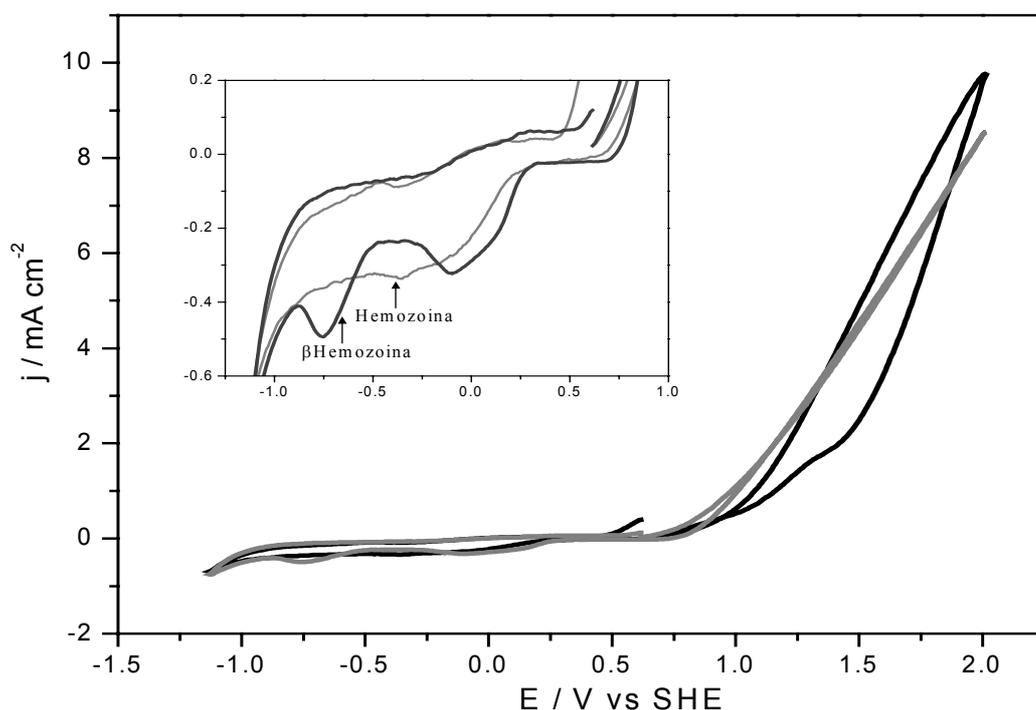


Figura 2. Voltamperogramas obtenidos sobre CPE- Hemozoina (línea gris) y CPE- β Hemozoina (línea negra) provenientes del control en 0.1 M de NaNO_3 ($\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$). Solo se muestra el barrido de potencial iniciado en dirección: positiva.

Al realizar la comparación de las respuestas de la Hemozoina y la β -Hemozoina provenientes del control se observa que para un mismo potencia la densidad de corriente de la β -Hemozoina es del doble respecto a la Hemozoina. De igual forma se observa que la densidad de corriente de reducción de la β -Hemozoina es mayor que la Hemozoina, teniéndose que para el mismo potencial de -0.75V es de 1.4 mayor.

En la figura 3 se observa que la respuesta voltamperométrica del CPE-Hemozoina proveniente de *Triatoma T. Longipennis* (línea gris) presenta 1 proceso de oxidación que comienza en un potencial de 1.43 V (ver ampliación). Al invertir el barrido de potencial al igual que en la Hemozoina sólo se observa un proceso de reducción que en este caso se presenta en el intervalo de potencial de -0.24V a -1V. En la respuesta voltamperométrica del CPE- β Hemozoina proveniente de *Triatoma T. Longipennis* (línea negra) en el barrido directo presenta su proceso de oxidación a partir del potencial de 0.51V (ver ampliación).

Mientras que al invertir el barrido de potencial se observan 2 procesos de reducción uno en el intervalo de -0.07V a -0.48 V y el otro en el intervalo de -0.48V a -1.13V.

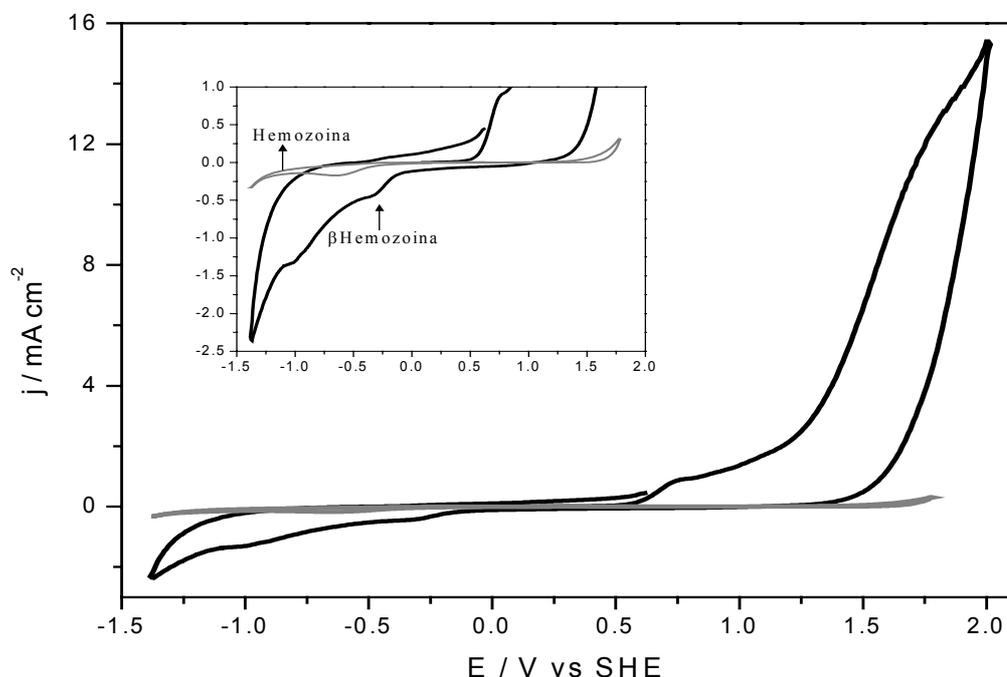


Figura 3. Voltamperogramas obtenidos sobre CPE- Hemozoina (línea gris) y CPE- β Hemozoina (línea negra) provenientes de *Triatoma T. Longipennis* en 0.1 M de NaNO_3 ($\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$). Solo se muestra el barrido de potencial iniciado en dirección: positiva.

La comparación de las respuestas de la Hemozoina y la β -Hemozoina provenientes de *Triatoma T. Longipennis* presentan el mismo comportamiento en las densidades de corriente de la oxidación y reducción de ser mayores en la β -Hemozoina con respecto a la Hemozoina. En este caso la densidad de corriente de oxidación y reducción para un mismo potencial en la en la β -Hemozoina es de 76 y 4 veces mayor respectivamente respecto a la Homozoina.

La diferencia grande observada en las densidades de corriente entre la muestra control y la muestras naturales podría ser atribuida a la existencia de otros componentes presentes que alteren la reactividad electroquímica del compuesto.

Es importante mencionar que para poder realizar la asignación de los procesos de reducción observados en los voltamperogramas de las figuras 2 y 3 se requiere realizar voltamperogramas a los compuestos orgánicos en ausencia de Fe. Estos

estudios serán realizados cuando una vez que se tengan el compuestos.

3. Conclusiones

Los resultados de este trabajo sugieren por una parte que los ensayos biológicos no muestran los procesos de oxidación y reducción reales ó que las moléculas biológicas (fosfolipido, Nucleicos, Etc.) están en un ambiente más oxidante debido a la presencia de la β -hemozoina. Esto puede dar lugar a que β -hemozoina se asocie con bicapas de fosfolipidos e interfiere con su integridad física y al rompimiento de membranas.

Por otra parte los resultados de este trabajo muestran la viabilidad de realizar estudios de caracterización sobre materiales biológicos altamente insoluble utilizando la técnica de electrodos de pasta de carbono en un medio de NaNO_3 .

4. Referencias.

- 1 AFG Slater, WJ Swiggard, BR Orton, WD Flitter, DE Goldberg, A Cerami, GB Henderson. Proc Natl Acad Sci 88 (1991) 325.
- 2 AFG Slater and A Cerami.. Haem polymerization in malaria. Nature 378(1995) 138.
- 3 S. Pagola, PW Stephens, DS. Bohle, AD. Kosar, SK. Madsen. Nature 404 (2000) 307.
- 4 MF. Oliveira, JR. Silva, M. Dansa-Petretski, CMS. Braga, H. Masuda, PL. Oliveira. FEBS Letters 477 (2000) 95.
- 5 G. Urbano, A. M. Meléndez, V. E. Reyes, M. A.Veloz and I. González International Journal of Mineral Processing 82 (2007) 148.
- 6 C. A. Canales Tesis de Licenciatura en Ciencia de los Materiales, UAEH (2007).