

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

PUBLICADO BAJO LA LICENCIA CREATIVE COMMONS

Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Unported.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



“No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original.”

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
“DR. LUIS EDMUNDO VÁSQUEZ”
ESCUELA DE MEDICINA



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ
MATÍAS DELGADO
SAN SALVADOR, EL SALVADOR C. A.

“Aplicación de una técnica no invasiva por autofluorescencia para la determinación de productos finales de glicación avanzada en Tabaquistas”.

**PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTORADO EN MEDICINA.**

Integrantes:

Br. Alfredo Antonio Aguirre Rivera
Br. Susan Steffanie Pleitez Santamaría.

Asesor:

Dr. William Andrés Hoyos Arango

20 de Febrero de 2017, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador.



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ
MATÍAS DELGADO
SAN SALVADOR, EL SALVADOR C. A.

Dr. David Escobar Galindo
RECTOR

Dr. José Enrique Sorto Campell
VICERRECTOR

Dr. José Nicolás Astacio Soria
**DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DR. LUIS
EDMUNDO VÁSQUEZ**

COMITÉ EVALUADOR:

Dr. Julio César Ruiz Quevedo
PRESIDENTE

Dra. Marta Eugenia Magaña de Ochoa
PRIMER VOCAL

Dr. Pedro Eduardo Sobenes Romero
SEGUNDO VOCAL

Dr. William Andrés Hoyos Arango
ASESOR

20 de Febrero de 2017, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador.

ACTA DE EVALUACIÓN DE DOCUMENTO ESCRITO DE TESIS POR EL JURADO

En la ESCUELA DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO a las 15 horas con 50 minutos del día 20 del mes de FEBRERO de 2017 reunidos los suscritos miembros del jurado examinador de la Tesis de Grado titulada:

TEMA:
Aplicación de una técnica no invasiva por autofluorescencia para la determinación de productos finales de glicación avanzada en tabaquistas

Presentada por el (los) la (s) egresados(as):

| | |
|---------------------------------------|---|
| 1. ALFREDO ANTONIO AGUIRRE RIVERA | |
| 2. SUSAN STEFFANIE PLEITEZ SANTAMARÍA | |
| 3. | 0 |

Para optar al Grado de:

| |
|-----------------------|
| DOCTORADO EN MEDICINA |
| Respectivamente |

HACE CONSTAR QUE: Habiendo revisado y evaluado en forma individual su contenido escrito, de conformidad al Art. 41, 42 y 43 del Reglamento de Graduación

ACORDARON DECLARARLA:

| | |
|-------------------------------------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | APROBADA SIN OBSERVACIONES |
| <input checked="" type="checkbox"/> | APROBADA CON OBSERVACIONES |
| <input type="checkbox"/> | REPROBADA |

No habiendo más que hacer constar, damos por terminada la presente acta que firmamos, entregando el original a la Secretaría de esta Unidad Académica.


Dr. Julio César Ruiz Quevedo
Presidente


Dra. Marta Eugenia Magaña de Ochoa
Primer Vocal


Dr. Pedro Eduardo Sobenes Romero
Segundo Vocal



Agradecimientos

De antemano, agradecer a Dios Todopoderoso por darnos la fuerza, valentía e inteligencia para llegar a culminar esta carrera con éxito, sin Él esto no habría sido posible. Esto es por Él y para Él.

A nuestras familias por el apoyo incondicional no solo en estos momentos sino a lo largo de toda la carrera en los ámbitos que ésta confiere y gracias a ellos por lo que hoy somos.

Gracias a nuestro asesor Dr. William Andrés Hoyos Arango, no solo por ser un asesor sino un amigo y compañero de equipo, gracias por todo. Hizo que todo valiera la pena.

Gracias a cada una de las personas que formaron parte de los sujetos de estudio, todos ellos alumnos de la Facultad de Medicina de la Universidad Dr. José Matías Delgado.

Gracias a la Lic. Miriam Lucila Montoya de Barrera no sólo por cada asesoría química que nos brindó sino también por ser más que una docente a lo largo de nuestra carrera, un apoyo emocional.

Gracias a la Facultad de Medicina Luis Edmundo Vásquez, por autorizar la realización del estudio y a los docentes que sin ningún problema brindaron el tiempo a los alumnos para asistir a cada una de las mediciones.

Gracias a la Universidad Dr. José Matías Delgado por prestarnos las instalaciones para montar el equipo y realizar cada medición.

Susan Steffanie Pleitez Santamaría.

Alfredo Antonio Aguirre Rivera.

Resumen

Introducción: Los AGEs son el resultado de una reacción no enzimática entre carbohidratos y grupos aminos, creando productos irreversibles, asociados al envejecimiento y al daño tisular.

Metodología: estudio experimental analítico, transversal, prospectivo. Se trabajó con estudiantes universitarios entre 18 y 30 años de edad tabaquistas y no tabaquistas; se realizaron 3 mediciones de fluorescencia en piel y orina con intervención dietética.

Resultados: se estudiaron 33 sujetos, 16 fumadores y 17 no fumadores, 31 hombres y 2 mujeres. Con edad promedio de 22.2 años. No existió diferencia estadística significativa entre los dos grupos en cuanto a edad e IMC. ($P=0.3$ y $P=0.1$). Al comparar las mediciones en piel del día 0 y 7 en ambos grupos se observó diferencia estadística significativa, ($P=0.02$) ($P= <0.0001$) respectivamente; el día 3 no se observó diferencia estadística ($P= 0.2$). Las mediciones de fluorescencia en orina al compararse entre ambos grupos no se encuentra diferencia estadística significativa todas ($P> 0.5$). Al realizar una correlación de Pearson para el día 0 se obtiene una relación directa, positiva entre la cantidad de cigarrillos y los niveles de AGEs en piel.

Discusión: En general los niveles de AGEs en piel son más elevados en sujetos tabaquistas (1.45 UA) vs no tabaquistas (1.75 UA). La concentración de AGEs en piel aumenta o disminuye dependiendo de la ingesta de los mismos ya sea por alimentos o tabaco; la medición de AGEs en orina permite diferenciar entre sujetos tabaquistas y no tabaquistas.

Palabras claves: Tabaquismo, AGEs, Espectrofotometría.

Tabla de contenido

| | |
|---|----|
| Pregunta de Investigación | 8 |
| Objetivo general | 8 |
| Objetivos específicos | 8 |
| Antecedentes de la Investigación | 9 |
| Justificación | 10 |
| Marco teórico..... | 12 |
| 1. Productos finales de glicación avanzada..... | 12 |
| 1.1 La reacción de Maillard..... | 12 |
| Fase Inicial | 12 |
| Fase Intermedia..... | 12 |
| Fase Final..... | 12 |
| 2. Estructura de los AGEs..... | 21 |
| 3. Receptores de AGEs..... | 23 |
| 4. Fuentes exógenas de productos finales de glicación avanzada..... | 26 |
| 5. Acumulación de AGEs en los tejidos..... | 28 |
| 5.1 Cristalino..... | 28 |
| 5.2 Colágeno | 29 |
| 5.3 Hemoglobina..... | 29 |
| 5.4 Elastina..... | 30 |
| 5.5 Mielina | 30 |
| 6. Excreción de productos finales de glicación avanzada..... | 32 |
| 6.1 Orina..... | 32 |
| 6.2 Heces | 32 |
| 7. Técnicas para detección y medición de los AGEs..... | 33 |
| 7.1 Espectroscopia por Fluorescencia | 33 |
| 7.2 ELISA | 33 |
| 8. Factores de riesgo y AGEs..... | 34 |
| 8.1 Tabaquismo y producción de AGEs..... | 34 |
| 8.2 Obesidad y niveles de AGEs | 35 |
| 9. AGEs y otras patologías..... | 36 |
| 9.1 Diabetes Mellitus y AGEs..... | 36 |
| 9.2 EPOC y AGEs | 36 |

| | |
|--|----|
| 9.3 Aterosclerosis y AGEs | 37 |
| 10. Inhibición de la formación de AGEs..... | 38 |
| 10.1 Aminoguanidina | 38 |
| 10.2 Amadorinas..... | 39 |
| Metodología | 40 |
| Hipótesis..... | 40 |
| Hipótesis de investigación (Hi): | 40 |
| Hipótesis Nula (Ho): | 40 |
| Diseño metodológico | 40 |
| Tipo de estudio..... | 40 |
| Población | 40 |
| Muestra | 40 |
| Criterios de inclusión y exclusión | 41 |
| Pentosidina | 42 |
| Consideraciones éticas:..... | 43 |
| Limitaciones..... | 43 |
| Variables de la investigación..... | 44 |
| Plan de recolección, procesamiento y análisis de datos. | 47 |
| Metodología de campo..... | 47 |
| Procedimientos de laboratorio..... | 48 |
| Recolección y análisis de datos..... | 49 |
| Presupuesto | 50 |
| Resultados..... | 52 |
| Discusión | 58 |
| Conclusiones | 60 |
| Recomendaciones | 61 |
| Referencias | 62 |
| Glosario | 69 |
| Anexos | 74 |

Generalidades

Pregunta de Investigación

¿Modifica el hábito tabáquico los niveles de AGEs en piel y excreción en orina?

Objetivo general

- Describir los cambios en la concentración de AGEs en piel y orina ante la modificación de escenarios experimentales en personas tabaquistas y no tabaquistas.

Objetivos específicos

- Relacionar los niveles sistémicos basales de productos finales de glicación avanzada con el consumo de tabaco.
- Contrastar los niveles de productos finales de glicación avanzada circulantes en diferentes escenarios de consumo tabáquico.
- Comparar los niveles acumulados y excretados de productos finales de glicación avanzada entre los diferentes grupos en los diferentes escenarios

Antecedentes de la Investigación

Las reacciones entre carbohidratos y aminoácidos fueron observadas por primera vez en 1912, por Louis Carmille Maillard químico francés, quien descubre que los carbohidratos al reaccionar de forma no enzimática con aminoácidos forman productos amarillo marrón o café oscuro; (1) los cuales se denominan AGEs (por sus siglas en inglés: Advanced Glycation end Products), y en 1981 Monnier et al describen la correlación de la reacción de Maillard con la glicación no enzimática, así como la implicación de esta reacción en procesos biológicos básicos como son el envejecimiento y degeneración de tejidos no renovables. (2)

Sin embargo no es hasta los últimos 20 años que se le ha dado importancia a la investigación sobre las vías de formación de estos compuestos.(3) Hoy en día estos compuestos se han visto en una estrecha relación con diferentes tipos de enfermedades relacionadas con la acumulación de AGEs en proteínas tisulares, lo que induce el envejecimiento prematuro de estas, influyendo en enfermedades tales como aterosclerosis, enfermedad renal crónica, enfermedad de Alzheimer, diabetes mellitus entre otras. (4) Además su utilización como marcadores de inflamación y daño tisular en el daño al neumocito tipo I por injuria pulmonar aguda. (5)

Así mismo en El Salvador existe un estudio titulado: fuentes exógenas de productos finales de glicación avanzada: biomarcador del estado metabólico en población adulta medido por fotoluminiscencia no invasiva, en el cual se concluye que la ingesta de alimentos con altos contenidos de AGEs está relacionado con riesgo cardiovascular y síndrome metabólico, los cuales pueden ser modificados y reducidos al implementar una adecuada dieta baja en AGEs y combinarla con ejercicio aeróbico y recalca la medición de la fotoluminiscencia como una alternativa viable para la medición de AGEs y su posterior implementación en el ámbito clínico, (detección temprana de riesgo cardiovascular y modificación del mismo).

Justificación

El tabaquismo es uno de los problemas que más afecta a la población a nivel mundial, debido a que es uno de los principales factores de riesgo modificables en el desarrollo de enfermedades crónicas como trastornos cardiovasculares, cáncer, diabetes y enfermedades pulmonares crónicas, (6) éste provoca la muerte de la mitad de sus consumidores y cada año aproximadamente 6 millones de personas, de las cuales 600,000 son fumadores pasivos y más de 5 millones de personas fumadores activos.(7) Se estima que para el año 2030 la cifra de muertes por consumo de tabaco se elevará hasta los 7,5 millones; lo que representará un 10% del total de muertes anuales, también se considera que el tabaquismo es causa de aproximadamente 42% de las enfermedades respiratorias crónicas, 10% del total de las enfermedades cardiovasculares y 71% de los casos de cáncer de pulmón. (6)

Las enfermedades crónicas poseen cuatro factores de riesgo fundamentales los cuales se han visto reforzados por los rápidos procesos de urbanización, la transición económica y los modos de vida del siglo XXI: el uso nocivo del alcohol, las dietas malsanas, el sedentarismo y el consumo de tabaco, se considera que el 80% de fumadores a nivel mundial se encuentran en países de ingresos bajos o medios. (6,7)

El contenido del humo del tabaco produce enfermedades crónicas entre las cuales destaca la enfermedad pulmonar obstructiva crónica la cual se registra que más de 3 millones personas murieron por esta causa en 2012, de las cuales aproximadamente un 90% se produjeron en países de medianos y bajos recursos, además se estima que un 6% de las muertes registradas ese año se debieron a EPOC.(8) Uchida et al muestran que los productos finales de glicación avanzada y sus receptores se encuentran relacionados con el daño y la inflamación de tejidos pulmonares, (5) y dichos productos se ven aumentados en la inflamación inducida por el humo del tabaco. (9)

Por dichas razones se desea estudiar los niveles de AGEs en pacientes tabaquistas y no tabaquistas, y relacionarlos así con el apareamiento de complicaciones a largo plazo debido al consumo de tabaco, y como dato clínico podría ser un elemento persuasivo para el abandono del hábito tabáquico y la adquisición de una dieta saludable, como factores protectores en enfermedad cardiovascular.

Marco teórico

1. Productos finales de glicación avanzada

Se define como producto final de glicación avanzada al resultado de una reacción no enzimática creando productos irreversibles, entre grupos amino de sustancias como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos con carbohidratos principalmente glucosa, mediante la transformación en bases de Schiff y el reordenamiento que evoluciona a productos de Amadori; la complejidad de este conjunto de reacciones fue simplificada por el científico John Hodge. (10)

1.1 La reacción de Maillard.

Hodge propuso una forma de simplificar este conjunto de reacciones mediante una clasificación en 3 etapas compuesta por 7 pasos nombrados de la letra A a la letra G; en 1986 Namiki introduce dada la importancia de los radicales libres involucrados en estas reacciones un octavo paso nombrado con la letra H, también conocido como la vía Namiki. (10)

Fase Inicial

Reacción A: Condensación de grupos azúcares con grupos amino.

Reacción B: Formación de los productos Amadori.

Fase Intermedia

Reacción C: Deshidratación de grupos azúcares.

Reacción D: Fragmentación de los grupos azúcares.

Reacción E: Degradación del amino-ácido (degradación de strecker).

Fase Final

Reacción F: Condensación del aldol.

Reacción G: Condensación del amino aldehído y formación de los compuestos nitrogenados heterocíclicos.

Reacción H: Reacciones de radicales libres.

Cada una de las reacciones mencionadas anteriormente se describen a continuación:

Reacción A: Condensación de grupo azúcares con grupos amino.

También llamada glicación reversible, este primer paso une cualquier grupo amino con el grupo carbonilo de cualquier grupo de azúcar sin necesidad de un catalizador, lo que resulta en la creación de un compuesto inestable denominado base de Schiff. (11)(Ver figura 1).

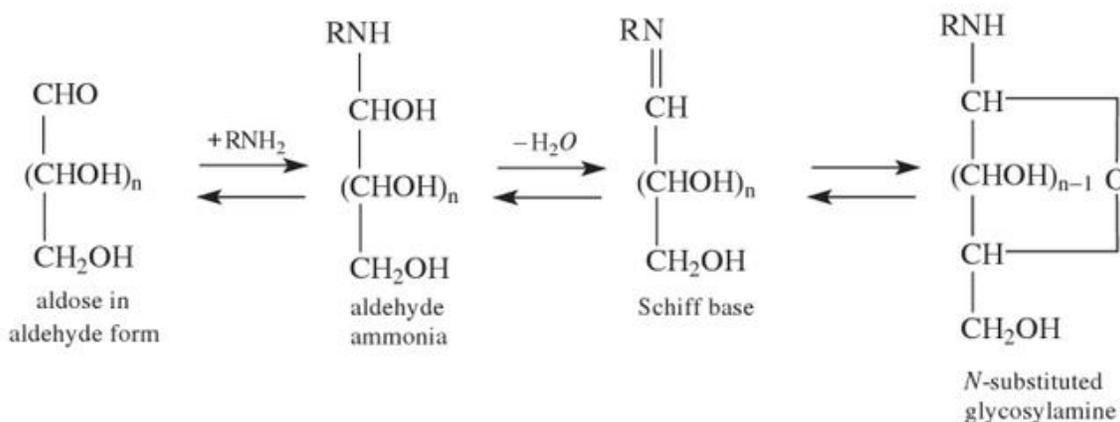


Figura 1. Formación de bases de Schiff. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

Reacción B: Formación de los productos Amadori.

Esta reacción también se denomina glicación irreversible, es una conversión espontánea de la base de Schiff en producto de Amadori el cual debe su estabilidad al pH ácido fisiológico; sin embargo esta glicación puede ser revertida al aumentar el pH a un promedio de 7.4 o al exponer este compuesto a la presencia de fosfato. (11)(Ver figura 2).

Reacción C: Deshidratación de grupos azúcares.

La deshidratación del azúcar ocurre por dos vías: bajo condiciones ácidas se producen compuestos llamados furfurales y en pH neutro o alcalino y/o presencia de aminos favorecen la formación de reductonas. (11)(Ver figura 4)

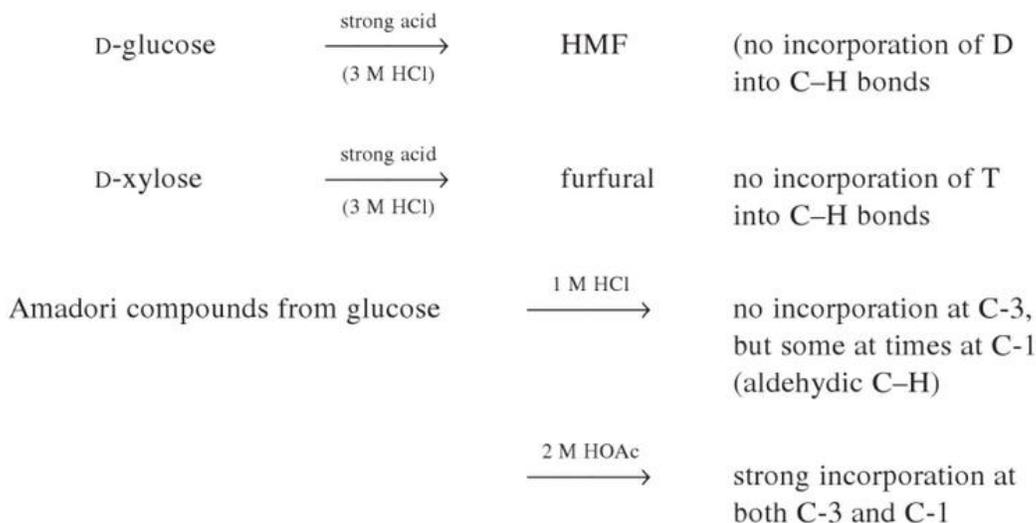


Figura 4. Formación de furfurales y reductonas. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

Formación de furfurales: diferentes compuestos pueden acelerar la formación de furfurales por ejemplo la glicina acelera la conversión de la xilosa a furfural y la glucosa a hidroximetilfurfural (HMF). Esto es debido a que los productos Amadori se deshidratan más rápidamente que la aldosa original o la N-glicosilamina. (11)

Formación de reductonas: se puede entender como una reductona a un azúcar que solo pierde dos moléculas de agua comparado con la pérdida de tres moléculas de agua de los furfurales; las reductonas son compuestos que contienen el grupo $-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{OH})-$. Estas explican el poder reductor que se genera durante la fase de oscurecimiento no enzimático. (11)

Reacción D: Fragmentación de los grupos azúcares.

La fragmentación del azúcar ocurre debido a la retro aldolización (dealdolización) aunque se piensa que también podría darse por fisión oxidativa, obteniendo como resultado aldehídos y cetonas(11) (ver figura 5).

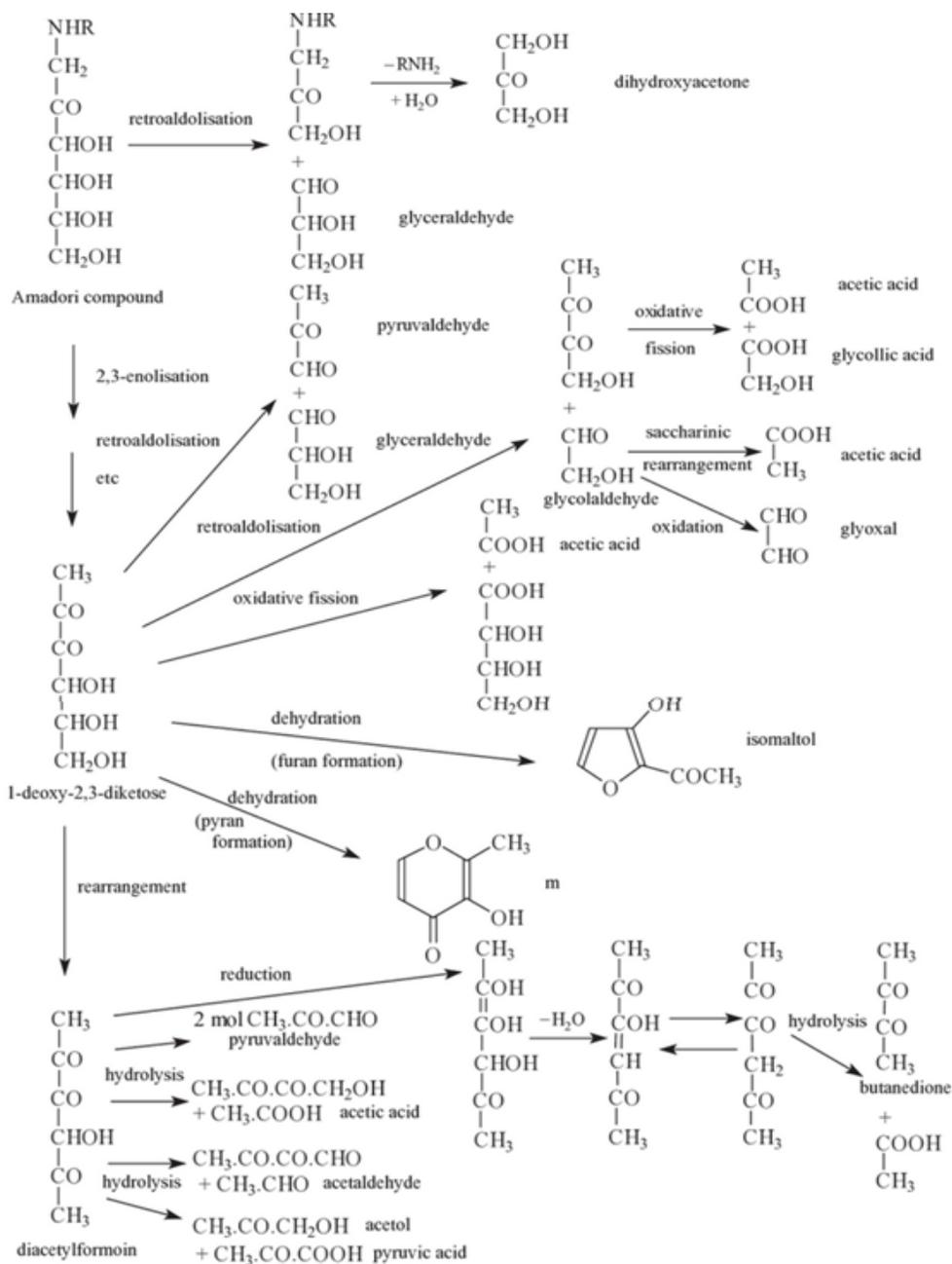


Figura 5. Fragmentación de azúcares. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005 (11)

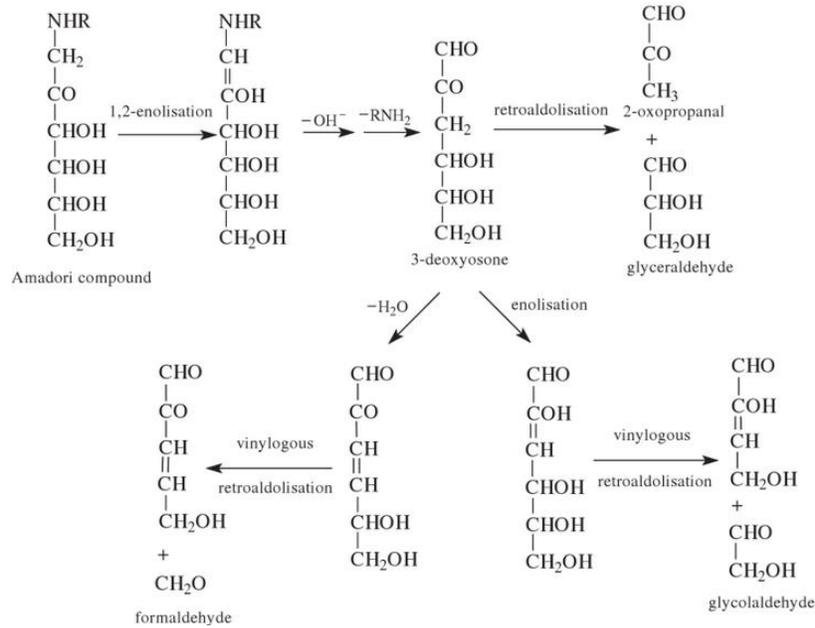


Figura 5. Continuación. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

Reacción E: Degradación del amino-ácido (degradación de strecker).

En esta reacción el α -amino es oxidado a aldehído dando como resultado dióxido de carbono y el amonio es transferido a otro componente del sistema; el principal producto de esta reacción son aldehídos y pirazinas las cuales tienen un papel importante en el aroma de las comidas recalentadas (11) **(ver figura 6)**.



Figura 6. Reacción de Strecker. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

Reacción F: Condensación del aldol.

Este paso comprende a condensación a aldol de los compuestos previamente formados en las reacciones C, D y E (furfurales, reductonas y aldehídos) sin la intervención de compuestos amino, formando como resultado quinonas de las cuales las benzoquinonas están relacionadas con la formación de melanina en animales, incluyendo el ser humano (11) **(ver figura 7)**.

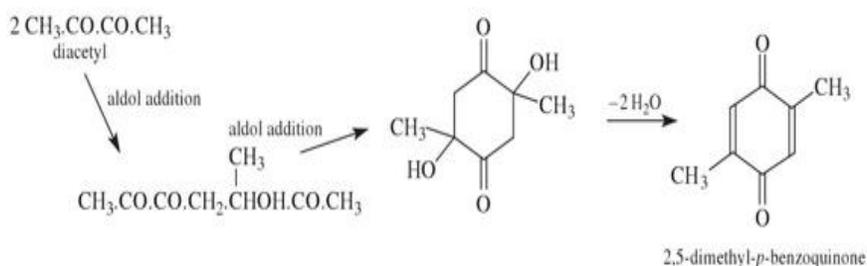


Figura 7. Formación de quinonas. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

Reacción G: Condensación del amino-aldehído y formación de los compuestos nitrogenados heterocíclicos.

Los aldehídos principalmente alfa y beta insaturados reaccionan a temperaturas bajas con aminas produciendo polímeros y copolímeros de alto peso molecular, de color marrón llamados melanoidinas. Compuestos de anillos heterocíclicos tales como piridinas, pirazinas, pirroles e imidazoles se encuentran presentes en estos compuestos los cuales contienen de un 3-4% de nitrógeno (11) **(ver figura 8)**.

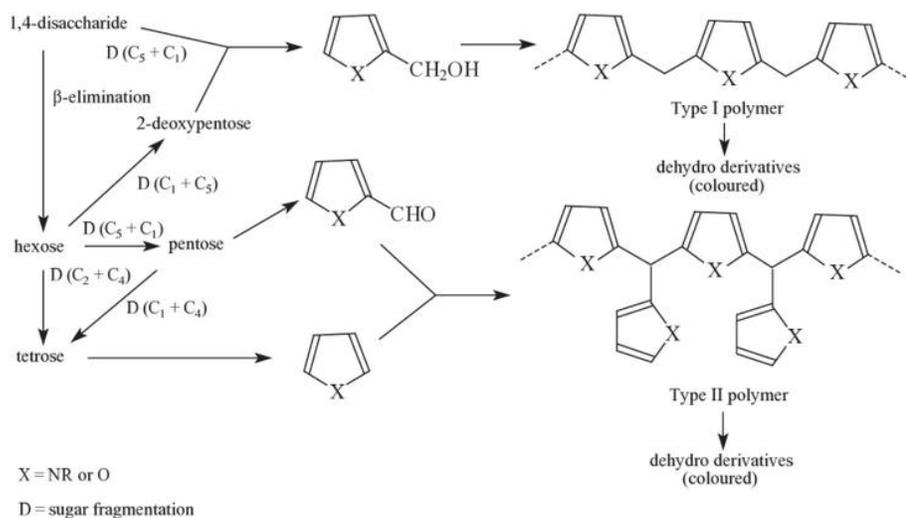


Figura 8. Rutas de formación de polímeros tipo melanoidina. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

Reacción H: Reacciones de radicales libres.

Reacción comprobada por Namiki y sus colegas lo cual muestra que radicales libres son creados desde etapas tempranas en la reacción de Maillard, se detectó que estos radicales se encontraban presentes antes de la síntesis del compuesto de Amadori; comprobando así que existe una vía alterna al oscurecimiento no enzimático concluyendo que el azúcar o la glicosilamina es el punto de inicio más probable, con la formación de la base de Schiff y oxidación subsecuente a la retroaldolización (**ver figura 9**). (11)

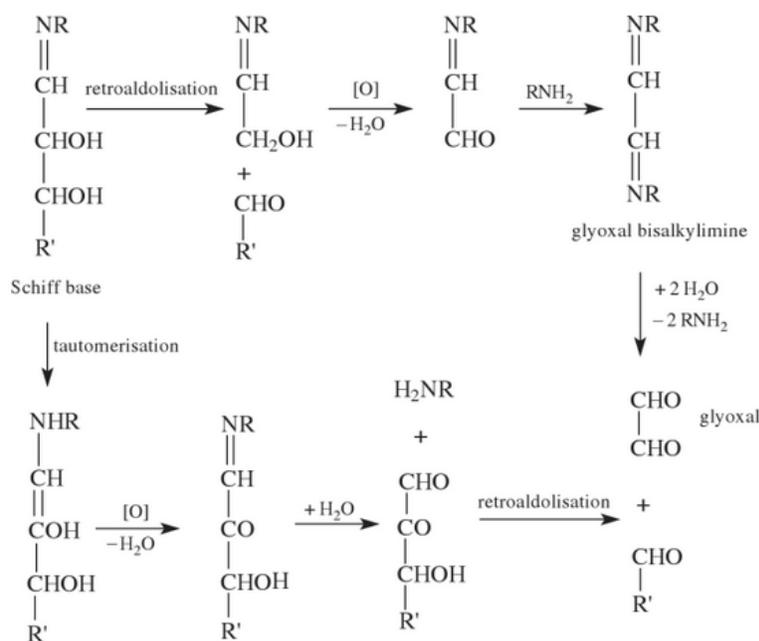


Figura 9. Formación de glicoxal de acuerdo a Namiki. Tomado de Chemistry, Biochemistry and Implications. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005. (11)

2. Estructura de los AGEs.

Son compuestos heterogéneos de peso molecular variable, con propiedades quelantes y óxido-reductores, algunos de ellos fluorescentes y otros son fuertemente pigmentados; los más comúnmente formados son la carboximetil-lisina (CML) (ver figura 10), la pentosidina (ver figura 11) y la pirralina (ver figura 12) tanto in vitro como in vivo y son de importancia en el campo de estudio por su propiedad de resistir pH ácidos. (12)

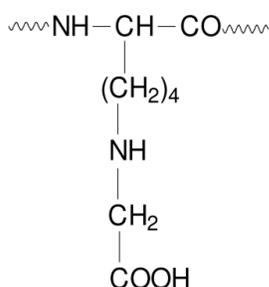


Figura 10. Carboximetil-lisina

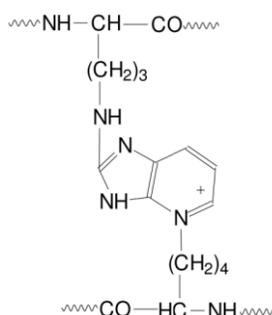


Figura 11. Pentosidina

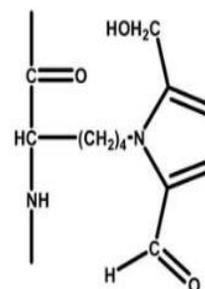


Figura 12. Pirralina

Los AGEs se clasifican en 6 clases diferentes de acuerdo a su estructura (AGE-1 - AGE-6) de los cuales separan en dos grandes grupos el primer grupo asociado a toxicidad celular, dentro de este grupo se encuentran los AGE derivados del gliceraldehído (AGE-2) y del glicolaldehído (AGE-3) denominados AGEs tóxicos. (12)

El segundo denominado AGEs no tóxicos derivados de la glucosa entre ellos: carboxietil-lisina, carboximetil lisina, pirralina, pentosidina (AGE-1), derivados del Metilglioxal (MGO) (AGE-4), derivados del Glioxal (GO) (AGE-5) y derivados de 3-desoxiglucosona (AGE-6); de los últimos 3 se forman los productos de entrecruzamiento o dímero de lisina: GOLD (por sus siglas en inglés: glyoxal lysine dimer), MOLD (por sus siglas en inglés: methylglyoxal lysine dimer), DOLD (por sus siglas en inglés: 3-deoxyglucosone lysine dimer). (Ver figura 13) (12)

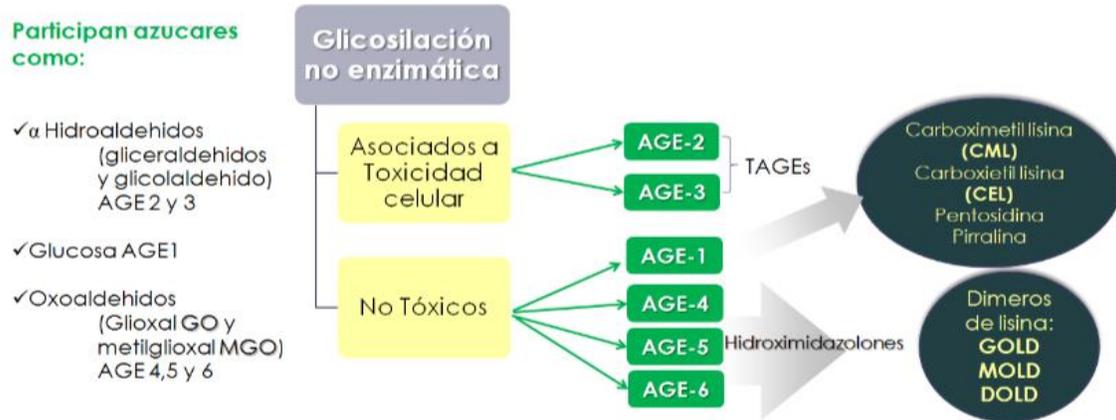


Figura 13. Clasificación estructural de los AGEs. Tomado de Farmacología molecular AGEs y RAGEs (1)

3. Receptores de AGEs.

Los receptores de los productos finales de glicación avanzada (RAGE) son parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas de superficie celular, el gen que codifica la expresión de los RAGEs en humanos se encuentra en el cromosoma 6 entre los genes que codifican para los complejos mayores de histocompatibilidad tipo II y III, (13) los cuales se expresan en una variedad de líneas celulares incluyendo endoteliales, neuronales, músculo liso, mesangiales y mononucleares, (14) poseen capacidad de modular la captación y remoción de AGEs desde las células, a través de la endocitosis y degradación, estos son capaces de reconocer un amplio rango de estructuras químicas entre las cuales AGEs, S100/calgranulinas, anfoterina y péptido β -amiloide. (15)

La estructura de los RAGEs se conforma de tres dominios uno extracelular, transmembranal y uno intracitoplasmático. El dominio extracelular está compuesto a su vez por tres diferentes dominios: un dominio variable ("V") tipo inmunoglobulina y dos dominios constantes ("C1 y C2") de los cuales C1 se encuentra incorporado como una estructura única con el dominio V formando el complejo VC1, a su vez el complejo VC1 se encuentra unido al complejo C2. El dominio transmembranal es único mientras que la cola citosólica se conforma de 43 aminoácidos (16) y es altamente importante para desencadenar las diferentes cascadas intracelulares. **(Ver figura 14)** (17)

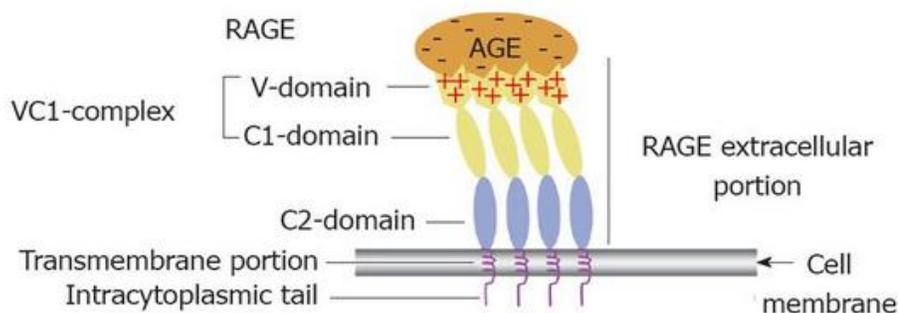


Figura 14. Conformación de Receptor de productos finales de glicación avanzada. Tomada de Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. (16)

Los RAGE presentan una serie de isoformas pese a estar codificado en un solo gen esto es debido a variantes durante el splicing; se reconocen principalmente tres isoformas: RAGE de longitud total, RAGE negativo dominante (DN-RAGE) y RAGE soluble (sRAGE) (18)

El RAGE de longitud total está compuesto por la totalidad de los tres dominios extracelular, transmembranal e intracelular; DN-RAGE cuenta solamente con el dominio extracelular y transmembranal pero carece del dominio intracelular; sRAGE posee solamente el dominio extracelular, razón por la cual se encuentra libremente en la circulación sistémica. (16)

Efectos intracelulares

La activación de los RAGEs desencadena múltiples vías de señalización intracelulares las cuales se han visto relacionadas con el desarrollo de muchas complicaciones en enfermedades como aterosclerosis, enfermedad cardiovascular, nefropatía e inflamación crónica. (19)

Las especies reactivas de oxígeno, las cuales se generan como subproducto de las reacciones Red-ox en respuesta a la estimulación de los RAGEs, han demostrado ser particularmente importantes en el deterioro tisular al modificar la estructura celular de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; (20) el deterioro tisular es además precipitado por la síntesis de diferentes intermediarios de inflamación tales como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), endotelina 1, IL-6, trombomodulina, factor tisular, citocinas proinflamatorias y RAGEs. (21) **(ver figura 15)**

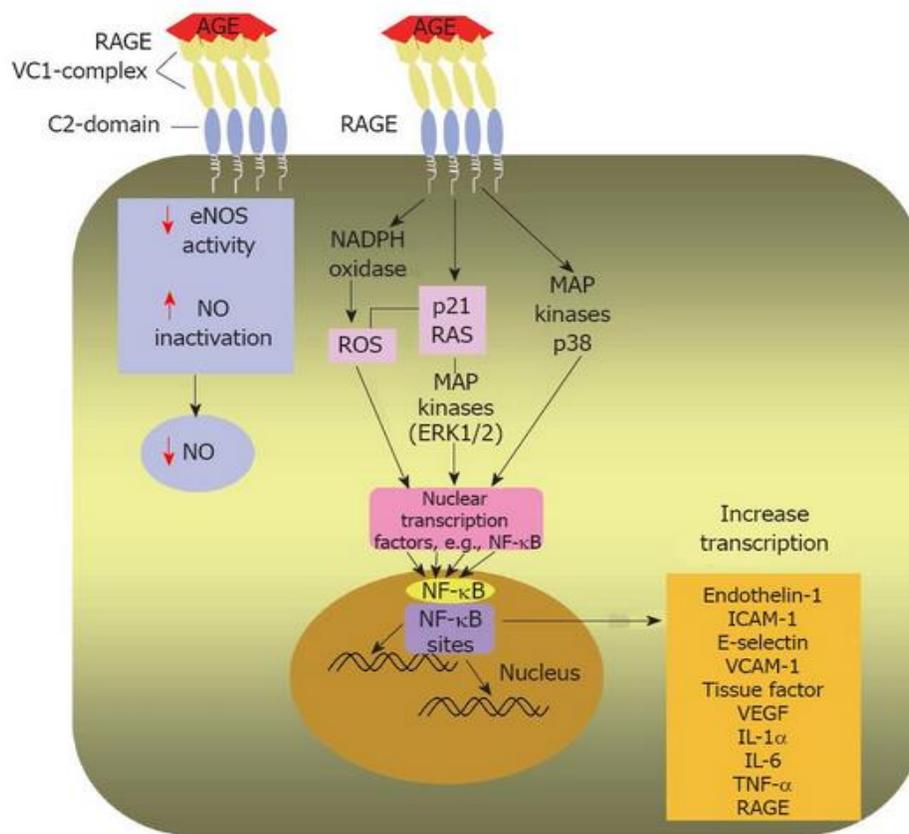


Figura 15. Acción intracelular de activación de RAGEs. Tomada de Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. (16)

4. Fuentes exógenas de productos finales de glicación avanzada.

Otra importante fuente de AGEs para el organismo además de la producción endógena antes descrita, se encuentran diferentes fuentes exógenas dentro de estas se engloban todos aquellos productos consumibles diariamente por el ser humano tengan valor nutritivo o no y que contienen una cantidad preformada de AGEs que se generan al hornear, freír, calentar, asar y procesar bajo calor. (22)

Los AGEs que se encuentran en los alimentos no pueden ser digeridos razón por la cual son absorbidos y transportados como moléculas de bajo peso molecular por el torrente sanguíneo, lo cual genera un aumento a niveles plasmáticos directamente proporcional a la cantidad ingerida en los alimentos. (15)

Se estima que oralmente se absorbe sólo un 10% de los AGEs documentados para cada alimento, esto se calcula mediante la fórmula: Elevación en suero de AGEs (mg/dL) x volumen de plasma (dL) = Cantidad de AGEs en sangre (mg). (15)

A Continuación se describe el contenido de carboximetilisina (CML) en los alimentos más comúnmente consumidos. (15) **(Ver figura 16)**

5. Acumulación de AGEs en los tejidos.

Los AGEs se acumulan en diferentes tejidos principalmente en aquellos que poseen moléculas de larga vida tales como el colágeno, la mielina neuronal y los cristalinicos del lente ocular, dando lugar a compuestos disfuncionales, insolubles y no degradables que se acumulan con el tiempo.(23) Se proponen fundamentalmente dos vías por las cuales la acumulación de AGEs en los tejidos contribuyen a la alteración en la estructura y función de éstos: de forma directa mediante la polimerización, generación de entrecruzamiento protéico, resistencia a la degradación por proteasas, secuestro de proteínas plasmáticas; y de forma indirecta mediante la activación celular por receptores AGEs y síntesis de productos inflamatorios.(24) A continuación se describen los principales cambios en diferentes tejidos de vida media-larga:

5.1 Cristalino

La catarata es uno de los principales resultados de la acumulación de AGEs en el cristalino esto se debe a la glicación de las proteínas del cristalino las cuales posteriormente realizan entrecruzamiento entre sí mismas mediante puentes disulfuro, afectando primordialmente el material de alto peso molecular del cristalino (HM); se han realizado estudios en los cuales se identifica el grado de glicosilación de las principales proteínas del cristalino (α , β y γ), de las cuales HM y α -cristalina son las que se ven glicosiladas en un grado más variable llevándolo al deterioro más temprano al apareamiento precoz de cataratas; mientras que las proteínas β y γ mantienen un índice de glicación estable determinado por el paso del tiempo, (25) la glicación de estas proteínas supone la desnaturalización de las mismas lo cual se traduce en la precipitación proteica y acumulación de estas en un solo sitio razón por la cual se opacifica el cristalino dando como resultado una catarata. Además se han realizado estudios en los cuales se establece el nivel de pentosidina como marcador de estrés oxidativo y desarrollo de tal patología. (26)

5.2 Colágeno

El colágeno es una proteína estructural de bajo recambio, la unión de muchas proteína de colágeno forma una fibra de colágeno y éstas fibras poseen propiedades elásticas; el colágeno al ser glicosilado se denomina colágeno-AGE y ésta nueva molécula formada produce un entrecruzamiento entre sí y la pérdida de solubilidad del colágeno, como consiguiente ocurre la pérdida de elasticidad de los tejidos ricos en colágeno del cuerpo así como una pérdida en la fuerza tensora de la molécula. Todos estos cambios moleculares lo vuelven más resistente a la digestión por las colagenasas, por lo cual en vez de degradarse, se acumula y origina diferentes afecciones como: engrosamiento cutáneo, (27) afección de las articulaciones, músculos esqueléticos y cristalinos, además en el sistema cardiovascular afecta con disminución de la presión diastólica y aumento de la presión sistólica. (25)

5.3 Hemoglobina

Es una proteína tetramérica globular que consta de 4 cadenas poli peptídicas de las cuales dos son α y dos son β , cada cadena posee un grupo Hemo al cual se une el oxígeno,(28) la glucosa reacciona con el NH₂-terminal valina de la cadena β de la hemoglobina obteniendo como resultado la formación de la hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) la cual se acumula lentamente durante la vida del eritrocito, (29) posteriormente el compuesto de Amadori presente en la HbA_{1c} se convierte en un AGE pasando a formar la estructura denominada Hemoglobina-AGE (Hb-AGE),(30) la importancia de estos dos tipos de hemoglobina radica en: HbA_{1c} es importante como un indicador del control glucémico en paciente diabéticos, cuyo valor objetivo en pacientes diabéticos sería $\leq 7\%$, (31) en comparación con la hemoglobina-AGE que sirve como un marcador bioquímico de glicación avanzada.(29)

5.4 Elastina

La elastina es un polímero de cadenas poli peptídicas lineales (tropoelastina) estabilizadas por puentes derivados de lisina, tales como desmosina, isodesmosina, lo cual lo convierte en un polímero levemente hidrofílico, además es una proteína altamente durable pudiendo durar toda la vida, se encuentra en diferentes órganos especialmente aquellos expuestos a estrés mecánico, como: paredes arteriales, piel, pulmones entre otros.(24) La elastina al glicosilarse pierde su estructura molecular, lo cual cambia su disposición a nivel tisular y su eficacia como material de soporte del tejido conectivo y como consecuencia los tejidos en que se encuentra se vuelven rígidos e hipertróficos. (32)

5.5 Mielina

La acumulación de AGEs en el Sistema Nervioso Central produce modificaciones en la mielina durante este proceso, la cual posteriormente es reconocida por macrófagos que se unen a receptores específicos de los AGEs, y esto parece provocar desmielinización segmentaria, degeneración axonal y una excesiva glicación de la mielina de los nervios periféricos, dicha glicación lleva a la afectación de las proteínas del citoesqueleto axonal, como tubulina, actina y neurofilamentos, que una vez alteradas enlentecen la conducción axonal y produce atrofia y degeneración axonal.(33) **(Ver figura 17)**

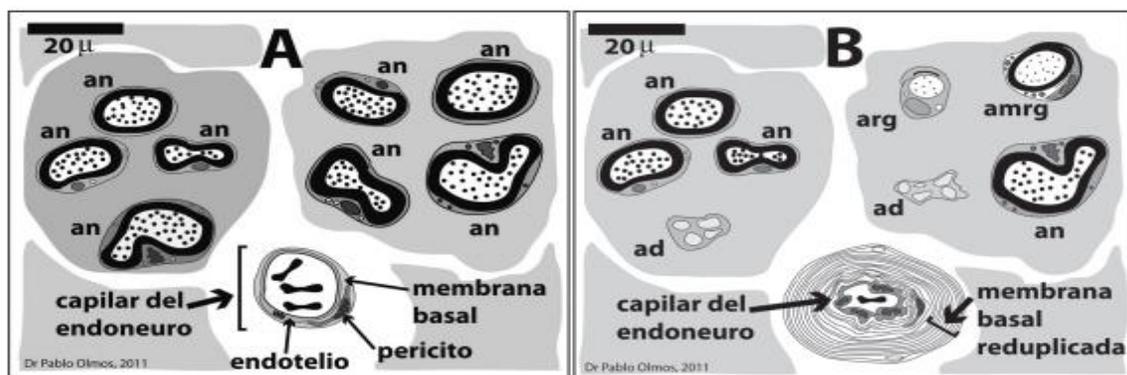


Figura 17. Modificación de axones por acumulación de AGEs. Tomada de Bases fisiopatológicas para una clasificación de la neuropatía diabética. (34)

Se conoce que en los estados de hiperglucemia se encuentran cinco aspectos que llevan a la alteración de nervios periféricos: la microangiopatía (daño de capilares y arteriolas) de los vasa nervorum, deterioro del transporte axonal, destrucción de la vaina de mielina y edema axonal; lo cual se traduce en pérdida axonal. También se conoce que la glucosa genera edema del nervio e hiperosmolaridad del mismo, al transformarse en sorbitol por acción de la aldosa-reductasa luego de introducirse en la célula de Schwann y el axón; además, aumenta el NADP⁺ (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma oxidada) a costa del NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida), lo cual inhibe la regeneración del glutatión, haciendo imposible la neutralización de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrosilantes (NOS), produciendo daño oxidante. El metabolismo glucídico es desviado hacia el del diacilglicerol (DAG) debido a una mayor oferta de NADH, esto produce la activación de la proteína-kinasa-C (PKC), la cual a su vez induce la producción de los mediadores TGF- β 1 (factor de crecimiento transformador β -1) y NF- κ β (Factor Nuclear Kappa β), ambos estimulantes de la fibrosis y la inflamación. (34)

6. Excreción de productos finales de glicación avanzada.

6.1 Orina

Los AGEs son digeridos por los macrófagos y convertidos en péptidos solubles de AGE los cuales son liberados al torrente sanguíneo y depurados por el riñón; por tanto una disminución de la capacidad de filtración renal se traduce en una acumulación de AGEs a nivel sistémico, lo cual conlleva al riesgo de formar nuevas interacciones AGE-RAGEs o se generen nuevos entrecruzamientos proteicos, desencadenando así las reacciones inflamatorias previamente conocidas. (15)

Un tercio de los AGEs endógenos a nivel plasmático son eliminados en la orina, el resto se une por enlaces covalentes a tejidos y células; (15) de este tercio excretado en orina, del 1 al 3% corresponde a la porción absorbida de fuentes exógenas de AGEs las cuales son excretadas aproximadamente 12 horas después de haber sido ingeridas. (35)

6.2 Heces

De los productos finales de glicación avanzada ingeridos a través de la dieta solo un 10 al 30% es liberado de los alimentos mediante la digestión de estos, solo un 10% de lo liberado es absorbido hacia la circulación sistémica mientras que el 90% restante es eliminado después de haber sido digerido por microorganismos de la flora normal; el 70-90% de AGEs ingeridos que no fueron liberados de la proteína de los alimentos son eliminados sin alteraciones por las heces; estudios recientes demuestran que la excreción en heces de los AGEs ingeridos se mantiene hasta 72 hr o más después de la ingesta. (35)

7. Técnicas para detección y medición de los AGEs.

7.1 Espectroscopia por Fluorescencia

La espectroscopia es una técnica bioanalítica que mide la fluorescencia de la reacción de glicación mediante la identificación de los AGEs fluorescentes en un espectro de 440 nm posterior a la excitación a 370 nm, esta técnica ha sido utilizada para identificar la acumulación de AGEs en los tejidos puede ser detectada de forma no invasiva dando una respuesta inmediata. (36)

Sin embargo los niveles obtenidos por espectroscopia de diferentes muestras tales como sangre, orina y piel pueden no representar directamente el nivel real a nivel de los tejidos. (36)

Actualmente se ha desarrollado un método de espectrofotometría que permite la medición de AGEs en piel mediante el uso de un fluorómetro que ilumina un centímetro cuadrado de la piel con una longitud de onda entre 300-420 nm y la luz que emite la piel iluminada es observada con una longitud de onda entre los 300-600 nm. (36)

7.2 ELISA

Técnica inmunoquímica que puede ser utilizada para la detección de AGEs fluorescentes como la pentosidina y no fluorescentes como CML por lo tanto es utilizada para la determinación cuantitativa de AGEs en muestras como suero, plasma, orina y otros fluidos corporales. La detección es mediante la unión de las proteínas a identificar con un anticuerpo con el cual reacciona posteriormente se le agregan diferentes reactivos que luego permiten identificar por espectrofotómetro la concentración de AGEs en la muestra analizada el resultado es comparado con una curva basal lo cual permite determinar la cantidad de AGEs presentes. (36)

8. Factores de riesgo y AGEs

8.1 Tabaquismo y producción de AGEs.

Para convertir el tabaco en un producto apto para la producción de cigarrillos éste debe pasar por un proceso denominado “curado” durante el cual este es expuesto principalmente al calor para el secado de la hoja y preservación del aroma, sin embargo como resultado se obtienen otras reacciones no deseadas como el aumento de los contenidos de las sustancias nitrogenadas simples y aminoácidos, la degradación de las proteínas en aminoácidos, oxidación y auto oxidación de polifenoles, las cuales pueden ser compuestos catalizadores para la formación de AGEs estos compuestos son denominados glicotoxinas las cuales tienen la capacidad de producir mutaciones en el ADN celular, entrecruzamientos proteicos y promover la formación de AGEs; se ha relacionado que al incrementar la exposición a las glicotoxinas aumenta proporcionalmente la incidencia de aterosclerosis y la prevalencia de cáncer.(37)

Además se ha demostrado que la ingesta de cigarrillos estimula la expresión de RAGEs por parte de las células epiteliales pulmonares lo cual sumado al incremento de la producción de AGEs desencadenan las vías de señalización por estimulación de RAGEs produciendo una retroalimentación positiva que genera síntesis de nuevos RAGEs y mayor producción de reactantes de inflamación produciendo así una inflamación tisular pulmonar.(9)

8.2 Obesidad y niveles de AGEs

El aumento en la ingesta de alimentos, sedentarismo, hiperglicemia, hipertrigliceridemia y el incremento del estrés oxidativo son característicos de la obesidad, es debido a la peroxidación de los lípidos que se crean compuestos reactivos de dicarbonilo que pueden reaccionar con residuos de aminoácidos de proteínas formando compuesto como la carboximetil lisina (CML), también se ha demostrado que en la diferenciación de pre adipocito hacia adipocito se sintetiza endógenamente CML lo cual indica que la acumulación de tejido adiposo está directamente relacionado con la acumulación de AGEs; además de la síntesis acelerada de AGEs producidos por la obesidad también se inhibe el sistema de la glioxalasa mediante la reducción de la expresión de la glioxalasa I a nivel sistémico en todos los tejidos debido a la activación de los RAGEs. (38)

9. AGEs y otras patologías

9.1 Diabetes Mellitus y AGEs

La producción de los AGEs está aumentada durante la evolución natural de la enfermedad especialmente en los casos de diabetes mellitus no controlada esto es debido a la hiperglicemia lo cual provee una mayor cantidad de sustratos para la glicación de proteínas;(39) la acumulación creciente de AGEs en los diferentes tejidos corporales da como resultado el desarrollo de las complicaciones relacionadas con un mal manejo glucémico principalmente por dos efectos, un efecto independiente al receptor que actúa mediante la glicación de proteínas de vida media larga y el entrecruzamiento de las mismas y un efecto dependiente de receptor mediante la activación de los RAGEs los cuales a su vez desencadenan la cascada inflamatoria por la activación del RAS (Reticular activating system) y MAP (Mitogen Activated Protein) estimulando la transcripción de NF- κ B, así como la producción de especies reactivas de oxígeno,(40) las cuales propician un desbalance del equilibrio pro-oxidante/antioxidante dando lugar a alteraciones en el ADN, proteínas, lípidos, y apoptosis celular que lleva a las complicaciones propias de la diabetes mellitus. (41)

9.2 EPOC y AGEs

El EPOC es un problema a nivel mundial debido al incremento de este mismo convirtiéndose en una de las principales enfermedades pulmonares asociado al daño tisular generado por las glicotoxinas contenidas en los componentes del cigarrillo; estudios como: “Advanced glycation end products and its receptor (RAGE) are increased in patients with COPD” comparan el grado de tinción del tejido pulmonar de pacientes con EPOC y pacientes sanos con anticuerpos sensibles a AGEs, posterior a lo que se concluye una mayor reactividad y acumulación de AGEs en la membrana celular de las células epiteliales de las paredes alveolares; en otro estudio: “Plasma advanced glycation end-products and skin autofluorescence are increased in COPD” se han demostrado que los niveles

de AGEs se encuentran aumentados en pacientes con EPOC comparado con pacientes sanos sin embargo no de la forma típica ya que los niveles plasmáticos de AGEs se encuentran similares en ambos casos debido a que la diferencia de concentración radica en la acumulación tisular de AGEs, es decir se encuentran en mayor cantidad a nivel de parénquima pulmonar y colágeno de piel en los pacientes con EPOC. Cabe recalcar que los AGEs también están aumentados al ser medidos por autofluorescencia en piel en pacientes con EPOC y tabaquistas. (42,43)

9.3 Aterosclerosis y AGEs

Se conoce como la acumulación de sustancias grasas en las paredes vasculares debido al depósito intracelular de AGEs en macrófagos y células de tejido muscular liso de arterias y venas; existen diferentes mecanismos por los cuales los AGEs producen disfunción de la íntima vascular entre ellos: el primero es debido a la disfunción mecánica causada por los entrecruzamientos creados por los AGEs entre las moléculas de la pared vascular, el segundo se debe a que la acumulación de AGEs en la pared vascular produce la adhesión de las células sanguíneas circulantes al endotelio; el tercero mediante la alteración de la función celular producido por la activación de los RAGEs encontrados en células endoteliales, macrófagos, músculo liso, renales y neuronales.(44)

10. Inhibición de la formación de AGEs.

10.1 Aminoguanidina

Al inhibir la formación de AGEs se pueden reducir las enfermedades asociadas a los diferentes mecanismos patológicos que estos poseen; desde el descubrimiento de las implicaciones de estos compuestos se han propuesto diferentes métodos para frenar la producción de los mismos, de los primeros esfuerzos cabe mencionar el de Maillard quien sugirió el uso de aminoácidos como la alanina de forma terapéutica, para que contrarrestara las consecuencias potencialmente dañinas de estos compuestos al reaccionar con la glucosa. (44)

Posteriormente fue introducida la aminoguanidina la cual es un reactivo de hidrazina y cuyo mecanismo de acción es reaccionar con los grupos carbonilo formados durante la reacción de Maillard, especialmente atrapando a los productos de Amadori, lo cual evita que se conviertan posteriormente a AGEs, la aminoguanidina se caracteriza por presentar mayor reactividad química en comparación al grupo amino terminal de la lisina que se encuentra en las proteínas, es debido a esto, que existe la hipótesis que podrían sintetizarse productos tempranos de glicación avanzada no reactivos derivados de la aminoguanidina, los cuales no avanzaría en las subsecuentes reacciones lo que impediría la formación de AGEs.(44)

Además se ha demostrado de forma experimental que la aminoguanidina es capaz de inhibir la formación de AGEs derivados de fosfolípidos, que toma lugar en durante la oxidación de ácidos grasos. (44)

A pesar que estos compuestos presentan efectos positivos y ayudan a inhibir la formación de AGEs, existen potenciales efectos adversos al uso de la aminoguanidina y otros inhibidores de la formación de AGEs, entre los cuales se puede mencionar: la reacción con otros grupos carbonilo como los del

fosfato de piridoxal el cual es la forma activa de la vitamina B₆.(45)

10.2 Amadorinas

Se ha descrito una nueva serie de inhibidores que también son capaces de impedir la transformación de los productos de Amadori a AGEs. Este nuevo grupo de sustancias han sido denominadas “Amadorinas”, siendo la piridoxamina (piridonina) la molécula representativa de este grupo de inhibidores; actualmente se sigue investigando el potencial terapéutico de este nuevo grupo, cabe recalcar que se han observado resultados superiores a los obtenidos con la aminoguanidina en diferentes modelos animales. (45)

Metodología

Hipótesis

Hipótesis de investigación (Hi):

Fumar provoca una mayor producción y acumulación de productos finales de glicación avanzada sensibles a la medición no invasiva por autoluminiscencia en piel.

Hipótesis Nula (Ho):

Fumar no provoca una mayor producción y acumulación de productos finales de glicación avanzada sensibles a la medición no invasiva por autoluminiscencia en piel.

Diseño metodológico

Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental analítico, transversal, prospectivo.

Población

Población diana: adolescentes y adultos jóvenes universitarios que serán estudiados de acuerdo al hábito tabáquico.

Población accesible: estudiantes universitarios entre 18 y 30 años de edad de la Universidad Dr. José Matías Delgado que accedan a formar parte del estudio mediante la firma del consentimiento informado.

Muestra

Se fundamenta en el número de unidades experimentales con hábito tabáquico y un grupo pareado para no tabaquistas, ajustado a la cantidad de recursos.

Marco muestral: marco resultante de una encuesta previa sobre consumo tabáquico y estado de salud.

Unidad de análisis: cada sujeto.

Selección de la muestra: a conveniencia.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión:

- Persona tabaquista.
- Persona no tabaquista.
- Acepten de forma voluntaria participar y firmar consentimiento informado.
- Personas mayores de 18 y menores de 30 años
- Estudiantes universitarios de cualquier facultad que quieran participar en el estudio.

Criterios de Exclusión:

- Persona no tabaquista con enfermedad crónica.
- Persona tabaquista con enfermedad crónica.
- No firmar consentimiento informado.
- Personas menores de 18 y mayores de 30 años.
- Fumador pasivo.

Pentosidina

La pentosidina es un producto final de glicación avanzada (AGE) uno de los pocos de este grupo cuya estructura química y molecular que posee propiedades fluorescentes, esta molécula ya está siendo estudiada por ser uno de los principales componentes que generan fluorescencia en piel a rangos de 440nm al presentarse excitación a 370nm y pueden ser medidos por un AGE reader. (46) Münch et al describen que existe correlación directa entre niveles de pentosidina en plasma con la intensidad de la fluorescencia producida por la glicación del colágeno (370/440 nm y 335/385). (47) Otros AGEs tales como la carboximetil lisina no son útiles para estudios de correlación ya que los niveles de ésta, siendo medida por ELISA, se mantienen bajos en plasma a pesar del aumento de los niveles generales de AGEs medidos por fluorescencia, los cuales correlacionan directamente con niveles de triglicéridos, colesterol y hemoglobina A₁C. (48)

Consideraciones éticas:

Tomando en cuenta los principios éticos de justicia, respeto y autonomía, se realizó una investigación involucrando seres humanos sin intervención directa; debido a que solo se necesitó la recolección de muestras de forma no invasiva, se realizó un consentimiento informado y no necesitó de la aprobación de un comité de ética. Toda la información proporcionada por los sujetos, fue mantenida bajo estricta confidencialidad, siendo accesible solamente para los investigadores.

Los sujetos de estudio fueron informados verbalmente acerca de las condiciones para participar en el estudio, por lo que expresaron su aceptación a las mismas y firmaron el consentimiento informado; de igual manera, las personas fueron informadas que eran libres de no participar en la investigación en cualquier tiempo o bajo cualquier circunstancia, sin que esto conllevara a repercusiones.

Limitaciones.

- Retraso en la aprobación del protocolo de investigación.
- Muestra reducida por falta de interés de parte de los participantes.
- Incumplimiento de los criterios de inclusión.

Variables de la investigación.

| Variables | Definición conceptual | Definición operacional | Dimensiones | Indicadores |
|--------------------------------------|--|--|---|---|
| Edad | Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha actual. | Número de años del estudiante de medicina al momento de pasar la encuesta. | Número de años | Cálculo de fecha de nacimiento por medio de DUI. |
| Sexo | Fenotipo característico de una persona distinguiéndose en femenino y masculino | Condición o género legalmente establecida en el acta de nacimiento del sujeto de estudio. | Masculino Femenino | Sexo establecido en DUI |
| Peso | Es la medida de la fuerza gravitatoria que actúa sobre un objeto. | Medida de la masa corporal compuesta por los diversos tejidos de un individuo. | Kilogramos Libras | Medida obtenida mediante el uso de una báscula. |
| Talla | Medida de una persona desde los pies hasta la cabeza. | Altura de cada individuo en estudio la cual varía dependiendo de edad, genética y nutrición. | Centímetros Metros | Medida obtenida mediante el uso de un tallímetro. |
| Índice de masa corporal (IMC) | Relación numérica del peso con la altura de una persona | Producto de la división del peso en kilogramos entre la talla en m ² de cada individuo en | Desnutrición: <18.5 Normal:18.5-24.9 Sobrepeso: 25- 29.9 Obesidad: | Peso en kilogramos(kg)/talla(m ²) |

| | | | | |
|--|--|---|---|--|
| | | estudio | >30 | |
| Enfermedad crónica | Enfermedad de larga duración y por lo general de progresión lenta | Enfermedad incurable de carácter degenerativo desarrollada en cualquier momento de la vida | IRC, HTA, Asma, DM, Epilepsia, Cardiopatías, Fibrosis quística. | Información obtenida en pregunta de encuesta |
| Individuo tabaquista | Persona que consume tabaco. | Sujeto que fuma más de un cigarrillo por día. | Número de cigarrillos consumidos por día (índice paquete-año) | Información obtenida en pregunta de encuesta |
| Paciente no tabaquista | Persona que no consume tabaco. | Sujeto que no fuma ni se encuentra expuesto al humo del cigarrillo. | No exposición al humo del cigarrillo. | Información obtenida en pregunta de encuesta |
| Niveles basales de AGEs en piel medidos por espectrofotometría. | Número de unidades arbitrarias resultantes de la Emisión de luz en el rango de 440 nm por los fluoróforos de los productos finales de glicación avanzada al ser excitados. | Se extrapolan las unidades arbitrarias resultantes de la emisión a la intensidad como medida de concentración | Unidades arbitrarias | Por espectroscopia óptica de fluorescencia |
| Niveles basales de AGEs excretados en orina por espectrofotometría. | Número de unidades arbitrarias resultantes de la Emisión de luz en el rango de 440 | Se extrapolan las unidades arbitrarias resultantes de la emisión a la intensidad como medida | Unidades arbitrarias | Por espectroscopia óptica de fluorescencia |

| | | | | |
|---------------------------------|---|---|--------------------------------------|---|
| | nm por los fluoróforos de los productos finales de glicación avanzada al ser excitados. | de concentración | | |
| Fuentes exógenas de AGEs | Alimentos con alto contenido de AGEs. | Cantidad de alimentos ingeridos con alto contenido de AGEs. | Ingesta: Alta Moderada Baja | Cantidad de AGEs medidos en Kilo Unidades por gramo de alimento |

Plan de recolección, procesamiento y análisis de datos.

Metodología de campo

Estudiantes universitarios serán abordados en sus instituciones para la presentación breve de la investigación, una encuesta recopilará datos de contacto personal y la presencia de hábitos tabáquicos; aquellos sujetos que cumplan con los criterios de inclusión serán abordados telefónicamente y se les pedirá de antemano que no utilicen crema humectante para cuerpo los días de recolección de datos, para una reunión posterior en la que se hará la presentación del consentimiento informado.

Los sujetos involucrados en el estudio serán divididos por sus hábitos tabáquicos en dos grupos: grupo A tabaquistas y grupo B no tabaquistas.

Una primera medición el día 3 de octubre, buscará establecer los niveles basales de AGEs en piel (AGEs acumulados) y orina (AGEs excretados) por espectrofotometría, además de servir para el llenado de la ficha clínica (datos personales, medidas antropométricas, inventario dietético de las últimas 48 horas para establecer consumo promedio); en esta misma sesión se brindará un esquema alimenticio estandarizado (ver anexo), así como la petición del cese del hábito tabáquico por 48 horas para nivelar (teóricamente) los valores en ambos grupos, junto con las recomendaciones para la próxima muestra (3 días después).

La segunda medición el día 6 de octubre, en esta sesión se entregará a los participantes una segunda dieta estandarizada por 48 horas pero sin limitación del hábito tabáquico.

La tercera medición el día 10 de octubre, utilizará las dos metodologías de cuantificación en orina (AGEs excretados) y piel (AGEs acumulados).

Procedimientos de laboratorio.

Método espectrofotometría:

La medición mediante espectroscopia óptica de fluorescencia será dirigida por el equipo de investigación del Dr. Carlos Rudamas de la Universidad Nacional de El Salvador. Para lo cual se utilizará el siguiente equipo:

Fibra óptica:

- Diámetro 400 micras.
 - Rango 300-1100nm.
 - Transmisión 83% en el rango de 350-900nm
- Permite mayor recolección y transmisión de luz.

Espectrógrafo USB4000:

- Resolución 10nm.
 - Rango 250-1100nm
 - Ángulo Blaze 500nm
- Permite la colección de la emisión de luz y su transformación de analógica a digital, para ser representada como un espectro en la computadora.

Estructura: se utiliza una estructura en forma de caja negra para evitar la radiación de fondo que afecta la toma de datos y para delimitar un área en específico de la piel agilizando así la medición.

Fuente de excitación: Se utilizará una lámpara de mercurio ya que posee un haz de excitación de 300 a 420nm.

Filtros pasa banda y paso alto: utilizados para delimitar el espectro de excitación y coleccionar la fotoluminiscencia, son de gran importancia ya que ayudan a coleccionar fluorescencia de la piel.

Lentes: para enfocar el área a excitar
Computadora.

Programa: Spectra Suite.

La cual se realizará de forma no invasiva mediante el contacto directo del espectrofotómetro con la piel del pulpejo del pulgar de los pacientes estudiados por un periodo menor a 10 segundos, lo cual permite la recolección de las emisiones por una fuente de excitación de una fibra óptica dentro del rango de emisión de banda de AGES de 420 a 600 nm.

Recolección y análisis de datos.

Todos los datos individuales fueron consignados en una ficha de paciente, posteriormente dichos datos fueron ingresados a una base de datos en Microsoft Excel y analizados en graph pad prism 6.0.

Se realizó un test exploratorio para cada variable (D Agostino Pearson) con el fin de establecer la normalidad, lo que permitirá hacer uso de estadística paramétrica o no paramétrica.

Una descripción de la población estudiada se realizó mediante estadística descriptiva.

Las comparaciones de concentración de AGEs por grupo y momento de toma se realizaron mediante la utilización de la T de Student de medidas repetidas respectivamente.

La asociación del tabaquismo concentraciones seguras e inseguras de AGEs se realizó mediante tablas de contingencia (Chi cuadrado y test de Fisher).

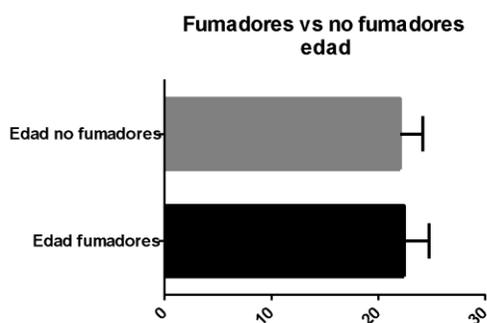
Presupuesto

| Material | Cantidad | Precio unitario | Costo total |
|-------------------|-----------------|------------------------|--------------------|
| Papel bond | 2 resmas | \$5.00 | \$10.00 |
| Fotocopias B/W | 400 copias | \$0.04 | \$16.00 |
| Impresiones B/W | 280 imp. | \$0.10 | \$28.00 |
| Impresiones color | 80 imp. | \$0.25 | \$20.00 |
| Empastado final | 1 | \$10.00 | \$10.00 |
| Anillado | 3 | \$1.60 | \$4.80 |
| CD | 2 | \$0.50 | \$1.00 |
| Gasolina | ----- | ----- | \$20.00 |
| Frascos de orina | 60 | \$0.15 | \$9.00 |
| Asesor | 1 | \$428.50 | \$857 |
| Subtotal | | | \$973.8 |
| Imprevistos | | | 10% del total |
| Total | | | \$1071.18 |

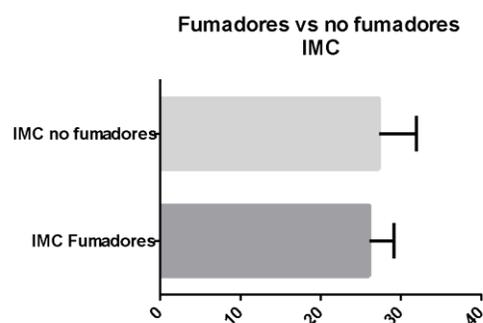
Resultados

Este estudio contó con la participación de 33 sujetos voluntarios divididos en dos grupos según su hábito tabáquico, 16 fumadores y 18 no fumadores, la distribución por sexo fue predominantemente masculina con un 93.9% y un 6.1% restante para las mujeres. La edad promedio fue de 22.2 años con una edad mínima de 18 años y máxima de 27 años (ver gráfica 1), todos los participantes enrolados fueron universitarios provenientes de un área urbana. Las mediciones antropométricas de talla y peso, revelaron un IMC promedio de 26.7, teniendo como mínimo 21.3 y máximo de 35.4 (ver gráfica 2).

Se dio inicio a la intervención con la indicación de una dieta estandarizada para controlar el consumo exógeno de productos finales de glicación avanzada, una segunda intervención dietética estándar de consumo de AGEs fue prescrita dos días antes de la segunda medición promedio de 5709.2kU/día para ambos grupos. Los días previos a la tercera medición se brindó una dieta con una cantidad promedio de 2752kU/día.



Gráfica 1. Se observa distribución homogénea de edad de los sujetos en estudio, por lo cual se consideran grupos comparables.



Gráfica 2. Se observa distribución homogénea de IMC de los sujetos en estudio, debido a lo cual se consideran grupos comparables.

No existió diferencia estadística significativa basal entre los dos grupos en cuanto a edad e IMC $P=0.3$ y $P=0.1$ (T de student) respectivamente.

El inventario dietético de 48 horas previas a la primera medición mostro las siguientes ingestas promedio de AGES por grupo:

Grupo fumadores: 8298 kU/día (5920 kU/día (min) – 12596 kU/día (máx)) 2 días previo a la medición 7535 kU/día (4596 kU/día (min) – 11650 kU/día (máx)) día previo a la medición.

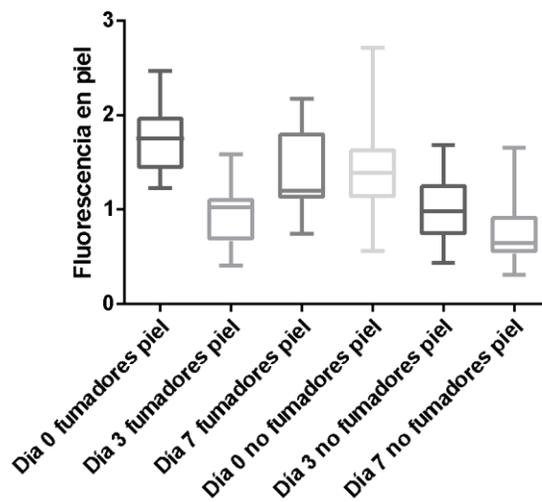
Grupo no fumadores: 8922 kU/día (5427 kU/día (min) – 13500 kU/día (máx)) 2 días previo a la medición 8872 kU/día (4750 kU/día (min) – 13587 kU/día (máx)) día previo a la medición.

Al comparar ambos grupos mediante la aplicación de T de student en el primer día no se observó diferencia estadística significativa entre la cantidad de AGEs ingerida ($P=0.2$), sin embargo en el segundo día se observó diferencia significativa entre la ingesta de AGEs entre fumadores y no fumadores ($P=0.04$) respectivamente.

Se realizaron 3 mediciones por espectrofotometría en piel (día 0,3 y 7). Al aplicar una T de student en las mediciones tomadas el día 0 para comparar ambos grupos se observan mediciones en general más elevadas de fluorescencia de AGEs en piel el primer día con respecto a las mediciones de los sujetos no fumadores ($P= 0.02$) mientras que el día 3 al aplicar la misma prueba no se observa una diferencia significativa ($P=0.2$), al aplicar Mann Whitney al día 7 se observa persiste una tendencia a la disminución en sujetos no fumadores, contrario a los sujetos fumadores debido a lo cual se establece diferencia estadística significativa. ($P= <0.0001$)

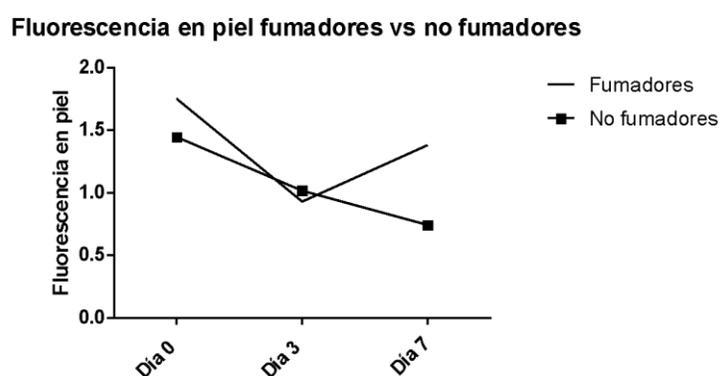
Así mismo al aplicar una T de student entre el día 0 y 7 del grupo de tabaquistas se observa una diferencia significativa entre ambas mediciones siendo mayores las mediciones basales en piel que las mediciones post ingesta de dieta estandarizada ($P=0.001$) y al aplicar test de Wilcoxon en el grupo de no tabaquistas entre las mediciones del día 0 y 7 de igual forma se observa diferencia significativa que reafirma la tendencia a disminución de AGEs en piel en este grupo de sujetos ($P<0.0001$). (ver gráfica 3)

Fumadores vs no fumadores fluorescencia en piel



Gráfica 3. Comparación de niveles de fluorescencia de AGEs en piel entre sujetos tabaquistas y no tabaquistas.

Al comparar los niveles obtenidos de fluorescencia de AGEs en piel en las diferentes mediciones de los tabaquistas con los niveles de los no tabaquistas se observa una tendencia a la disminución en el grupo de los no tabaquistas posterior al control de la ingesta de AGEs estandarizada; son apreciables además los niveles de AGEs en las mediciones del día 0 y 7 se presentan más elevadas en sujetos tabaquistas que en sujetos no tabaquistas con una diferencia promedio de 0.3 UA en el día 0 y de 0.64 en el día 7. (Ver gráfica 4) (ver tabla 1).



Gráfica 4. Promedios fluorescencia de AGEs en piel en sujetos fumadores y no fumadores en las diferentes mediciones.

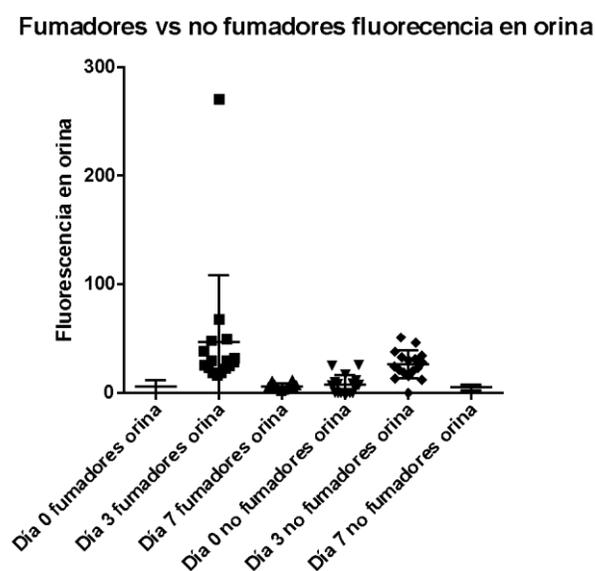
| | PIEL | | ORINA | |
|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | FUMADORES | NO FUMADORES | FUMADORES | NO FUMADORES |
| Día 0 | 1.75 ± 0.36 | 1.45 ± 0.51 | 5.79 ± 5.8 | 7.68 ± 8.48 |
| Día 3 | 0.93 ± 0.30 | 1.02 ± 0.33 | 46.7 ± 61.3 | 26.1 ± 12.8 |
| Día 7 | 1.38 ± 0.44 | 0.74 ± 0.32 | 5.9 ± 2.81 | 4.9 ± 2.43 |

Tabla 1. Se observan valores promedio de valores obtenidos más desviación estándar en cada medición en cada grupo.

Se realizaron 3 mediciones por espectrofotometría en orina (día 0,3 y 7). En el día 0 y 7 al aplicar T de student para comparar ambos grupos no se observa una diferencia significativa ($P=0.2$) y ($P=0.1$) respectivamente, además se realiza test de Mann Whitney para la comparación del día 3 en ambos grupos y no se observa una diferencia estadística significativa ($P=0.1$).

Se presenta un aumento en la segunda medición en ambos grupos siendo este más notable en el grupo de tabaquistas, además se puede observar una tendencia a la disminución en la tercera medida de tabaquistas y no tabaquistas.

En la segunda medición, luego de brindar a los sujetos una dieta estandarizada, se observó en ambos grupos una tendencia a la disminución en la cantidad de AGEs excretados en orina, cabe recalcar que al comparar la segunda medición con la tercera intragrupal se observó significancia estadística al aplicar test de Wilcoxon en tabaquistas ($P=<0.0001$) y T de student en no tabaquistas ($P=<0.0001$) (Ver gráfica 5).

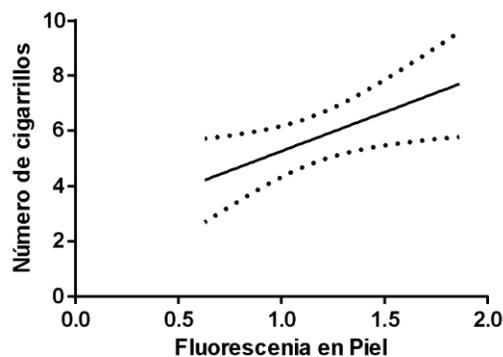


Gráfica 5. Comparación de niveles de AGEs en orina por fluorescencia entre fumadores y no fumadores.

Los resultados de la segunda medición presentan una discrepancia marcada con respecto al resto de mediciones; posiblemente debido a las alteraciones del medio ambiente como la luz, temperatura y el traslado de la orina hacia el laboratorio de física donde se realizaron las mediciones.

Al realizar una correlación de Pearson entre la cantidad promedio de cigarrillos consumida por los sujetos tabaquistas y los niveles de fluorescencia de AGEs en piel, obtenidos en la medición del día 0, se obtiene una correlación estadísticamente positiva ($P = 0.02$) y ($r = 0.5$) lo cual nos indica que existe una correlación directa de forma positiva entre ambas variables; así mismo se puede observar que a mayor cantidad de cigarrillos consumidos se presentan mayores niveles de fluorescencia en piel de AGEs. (ver gráfica 6).

Correlación AGEs piel día 0 vs número de cigarrillos



Gráfica 6. Correlación entre cantidad promedio consumida de cigarrillos por día y las concentraciones de AGEs en piel de tabaquistas en día 0 de medición.

Discusión

El tabaquismo es uno de los principales factores de riesgo modificables de morbi-mortalidad en enfermedades crónicas degenerativas, éste trabajo da relevancia fisiopatológica para poder atribuir a los productos finales de glicación avanzada y a las glicotoxinas contenidas en el cigarrillo como agentes responsables del daño orgánico irreversible a largo plazo (9,16,37) debido a la desnaturalización de proteínas como colágeno, elastina entre otras. (24,25,32)

Se identificaron dos fuentes exógenas de AGEs, (dieta y tabaquismo) para este trabajo; estos dos factores fueron cuantificados en su estado basal en los dos grupos, la medición resultante otorgó una diferencia estadísticamente significativa a los niveles de AGEs en piel, resultando mayores para los sujetos tabaquistas, Nicholl et al. evidenciaron dicha diferencia en estructuras anatómicas como el cristalino y vasos sanguíneos de tabaquistas, presentando una relación de 4-1 según análisis realizados por ELISA. Los análisis realizados por fluorescencia mostraron que el grupo de tabaquistas obtuvo en promedio 20 unidades arbitrarias mayores a los resultados del grupo de no tabaquistas.(49) Las mediciones propias muestran un nivel basal promedio de 1.45 ± 0.5 UA para los no tabaquistas y 1.75 ± 0.3 UA para los tabaquistas, así como una relación directamente proporcional entre la cantidad de cigarrillos consumidos y la concentración de AGEs en piel.

Las proteínas contenidas en las carnes son las principales fuentes de AGEs en la dieta. (22) Del total de AGEs ingeridos en alimentos, aproximadamente un 10% de los AGEs ingeridos son absorbidos y metabolizados, (15) se realizó un inventario dietético de los dos días previos a la medición basal de ambos grupos con un valor promedio de 7916.5 kU/día para el grupo de fumadores y un valor de 8897 kU/día para el grupo de no fumadores. Investigaciones tratan de establecer un nivel seguro de consumo de AGEs, Jara en un estudio poblacional chileno encontró una ingesta promedio de AGEs de 21,945 kU/día para sujetos sanos, (50) un estudio cohorte de pacientes de Nueva York sanos presentan un consumo promedio de 15,000 kU/día, niveles similares a los encontrados por Goldberg et al. que reporta

un valor de 16,000 kU/día para pacientes sanos y 18,000 kU/día para pacientes diabéticos. (51) Al comparar estos valores con los obtenidos en este estudio se encontró que la población universitaria salvadoreña intervenida presenta niveles de consumo saludables de AGEs.

Los valores de ingesta basales de ambos grupos no presentaron diferencia estadística significativa, sin embargo se observó que la medición basal en piel es mayor en tabaquistas lo cual se justifica debido a su hábito tabáquico.

Los valores derivados de la segunda intervención mostraron en general una tendencia a la disminución para ambos grupos, la prescripción de la dieta estandarizada de AGEs a 5709.2kU/día y el cese de consumo de tabaco derivó en reducción de los niveles por debajo de los no tabaquistas debido a que suspende la exposición a la glicotoxinas contenidas en el cigarrillo disminuyendo así la cantidad de AGEs producidos. (37) La influencia de la dieta en la disminución de los AGEs ya ha sido comprobada por múltiples estudios, Rodríguez et al. Menciona que la reducción calórica ayuda a la reducción plasmática de niveles de CML, (52) Uribarri et al. sostienen que la reducción de ingesta de AGEs disminuye la carga tóxica de los mismos a nivel sistémico. (53)

La medición de cierre, posterior a la indicación de una dieta muy baja en AGEs (2752kU/día) pero con mantenimiento del hábito tabáquico, mantiene la tendencia a la disminución para los no tabaquistas y la elevación esperada para los tabaquistas.

En forma paralela el monitoreo de los niveles de fluorescencia en orina excretados por los dos grupos presentó un comportamiento poco uniforme que solo permite diferenciar entre tabaquistas y no tabaquistas, pero que parece no ser sensible a los cambios dietéticos a pesar de que la excreción en orina no suele tardar más de 48 horas, (15) este comportamiento se ha documentado previamente y se ha llegado a la conclusión, que la orina, no necesariamente refleja los niveles tisulares de AGEs. (54)

Conclusiones

La concentración de AGEs en piel se relaciona directamente con la modificación dietética y del hábito tabáquico, sin embargo, la orina no presenta modificación significativa debido a su comportamiento errático que solo permite la diferenciación entre tabaquistas y no tabaquistas.

El consumo de AGEs en la población universitaria se considera seguro, sin embargo los cambios dietéticos en cuanto a nivel de AGEs influyen en los valores obtenidos por fluorescencia en piel.

Se evidenció que a mayor consumo de cigarrillos al día, se presenta una mayor concentración de AGEs en piel medidas por autofluorescencia.

El cese del consumo de tabaco se correlaciona con disminución de la concentración de los niveles de AGEs en piel; así mismo, el reinicio conlleva al aumento de la concentración de los niveles de AGEs en piel.

Existe una correlación entre la excreción y el consumo de AGEs, pero no así entre la fluorescencia en piel y la excreción de los productos finales de glicación avanzada.

Recomendaciones

- Incluir dentro de los materiales de Laboratorio de Biología Molecular un Micro Plate Reader para contar con mejores insumos para la realización de nuevas investigaciones en este ámbito y poder comparar con el Gold Estándar ELISA.
- Promover el apoyo institucional y de docentes para la realización de investigaciones científicas futuras dentro del campo universitario y de la Facultad de Medicina.
- Mejorar las condiciones ambientales del lugar para futuras tomas de muestra para evitar alteraciones en las mismas durante el desarrollo de futuras investigaciones.

Referencias

1. Gómez J, Islas M. *Productos finales de la Glicación Avanzada (AGEs) y sus receptores (RAGEs)*. In: Farmacología Molecular AGEs y RAGEs. p. 1. s.f. Disponible en: https://www.academia.edu/6129887/Farmacolog%C3%ADa_Molecular_AGEs_y_RAGEs_FORMACI%C3%93N_DE_LOS_PRODUCTOS_FINALES_DE_LA_GLICACI%C3%93N_AVANZADA (último acceso 15 Septiembre 2016)
2. Monnier V, Cerami A. Nonenzymatic browning in vivo: possible process for aging of long-lived proteins. *Science* [Internet]. 1981 Jan 30; 211(4481):491–3. Disponible en: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.6779377> (último acceso 16 Septiembre 2016)
3. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* [Internet]. 2001 Feb 5; 44(2):129–46. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s001250051591> (último acceso 16 Septiembre 2016)
4. Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PHN, Links TP, Jager JJ, Alderson NL, et al. Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. *Diabetologia* [Internet]. 2004 Jul; 47(7). Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-004-1451-2> (último acceso 16 Septiembre 2016)
5. Uchida T, Shirasawa M, Ware LB, Kojima K, Hata Y, Makita K, et al. Receptor for Advanced Glycation End-Products Is a Marker of Type I Cell Injury in Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2006 May; 173(9):1008–15. Disponible en: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200509-1477OC> (último acceso 16 Septiembre 2016)
6. OMS. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2010 Resumen de orientación [Internet]. OMS; 2010. Disponible en: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_summary_es.pdf?ua=1 (último acceso 21 Marzo 2016)
7. OMS. Tabaco Nota descriptiva n° 339 [Internet]. OMS; 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/es/> (último acceso 21 Marzo 2016)
8. OMS. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) Nota descriptiva N°315 [Internet]. OMS; 2015. Disponible en: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs315/es/ (último acceso 21 Marzo 2016)
9. Reynolds P, Kasteler S, Schmitt R, Hoidal J. Receptor for Advanced

- Glycation End-Products Signals through Ras during Tobacco Smoke–Induced Pulmonary Inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* [Internet]. 2010 Jun; 42(2):411–8. Disponible en: <http://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1165/rcmb.2010-0231OC> (último acceso 15 Septiembre 2016)
10. Zhang Q, Ames JM, Smith RD, Baynes JW, Metz TO. A Perspective on the Maillard Reaction and the Analysis of Protein Glycation by Mass Spectrometry: Probing the Pathogenesis of Chronic Disease. *J Proteome Res* [Internet]. 2009 Feb 6; 8(2):754–69. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr800858h> (último acceso 16 Septiembre 2016)
 11. Nursten H. *The Chemistry of Nonenzymic Browning*. In: Maillard Reaction [Internet]. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2005 [cited 2016 Sep 16]. p. 5–30. Disponible en: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781847552570-00005> (último acceso 16 Septiembre 2016)
 12. Gómez J, Islas M. *Productos finales de la Glicación Avanzada (AGEs) y sus receptores (RAGEs)*. In: Farmacología Molecular AGEs y RAGEs. p. 2–4. s.f. Disponible en: https://www.academia.edu/6129887/Farmacolog%C3%ADa_Molecular_AGEs_y_RAGEs_FORMACI%C3%93N_DE_LOS_PRODUCTOS_FINALES_DE_LA_GLICACI%C3%93N_AVANZADA (último acceso 15 Septiembre 2016)
 13. Li J, Schmidt AM. Characterization and Functional Analysis of the Promoter of RAGE, the Receptor for Advanced Glycation End Products. *J Biol Chem* [Internet]. 1997 Jun 27; 272(26):16498–506. Disponible en: <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.272.26.16498> (último acceso 16 Septiembre 2016)
 14. Lindsey JB, Cipollone F, Abdullah SM, Mcguire DK. Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) and soluble RAGE (sRAGE): cardiovascular implications. *Diabetes Vasc Dis Res Off J Int Soc Diabetes Vasc Dis* [Internet]. 2009; 6(1):7. Disponible en: <http://dvr.sagepub.com/cgi/doi/10.3132/dvdr.2009.002> (último acceso 16 Septiembre 2016)
 15. Fuentes M, Olmos P, Santos J. Productos finales de glicación avanzada (AGEs) y su importancia en enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición. *Rev Chil Endocrinol Diabetes* [Internet]. 2014 Dec; 8(2):70–7. Disponible en: http://www.revistasoched.cl/2_2015/5-.pdf (último acceso 16 Septiembre 2016)

16. Hegab Z. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol* [Internet]. 2012; 4(4):90. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1949-8462/full/v4/i4/90.htm> (último acceso 16 Septiembre 2016)
17. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* [Internet]. 2001 Oct 1; 108(7):949–55. Disponible en: <http://www.jci.org/articles/view/14002> (último acceso 16 Septiembre 2016)
18. Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M, Yang H, et al. Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *FASEB J* [Internet]. 2007 Dec 20; 22(5):1572–80. Disponible en: <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.07-9909com> (último acceso 16 Septiembre 2016)
19. Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, et al. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem*. 1994 Apr 1; 269(13):9889–97 (último acceso 16 Septiembre 2016)
20. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. *Endocr Rev* [Internet]. 2002 Oct; 23(5):599–622. Disponible en: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/er.2001-0039> (último acceso 16 Septiembre 2016)
21. Basta G. Advanced Glycation End Products Activate Endothelium Through Signal-Transduction Receptor RAGE: A Mechanism for Amplification of Inflammatory Responses. *Circulation* [Internet]. 2001 Dec 19; 105(7):816–22. Disponible en: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/hc0702.104183> (último acceso 16 Septiembre 2016)
22. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet. *J Am Diet Assoc* [Internet]. 2010 Jun; 110(6):911–916.e12. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002822310002385> (último acceso 16 Septiembre 2016)
23. Bengmark S, Gil A. Productos finales de glicación y de la lipoxidación como amplificadores de la inflamación: papel de los alimentos. *Nutr Hosp* [Internet]. 2007 May 13; 22(6):625–40. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000800001 (último acceso 16 Septiembre 2016)

24. Konova E, Baydanoff S, Atanasova M, Velkova A. Age-related changes in the glycation of human aortic elastin. *Exp Gerontol* [Internet]. 2004 Feb; 39(2):249–54. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0531556503002699> (último acceso 16 Septiembre 2016)
25. Mamas A, Hoenders H. Glycation of crystallins in lenses from aging and diabetic individuals. *Fed Eur Biochem Soc* [Internet]. 1992; 314(1):1–4. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/0014-5793%2892%2981446-S/pdf> (último acceso 16 Septiembre 2016)
26. Morales S, García-Salcedo JA, Muñoz-Torres M. Pentosidina: un nuevo biomarcador de las complicaciones en la diabetes mellitus. *Med Clínica* [Internet]. 2011 Mar; 136(7):298–302. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775310000540> (último acceso 16 Septiembre 2016)
27. Cohen E. La Glicosilación no enzimática una vía común en la diabetes y el envejecimiento. *Med Cutánea Ibero-Lat-Am* [Internet]. 2011; 39(6):243–6. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3842843> (último acceso 16 Septiembre 2016)
28. Jensen F, Fago A, Weber R. Hemoglobin structure and function. *Fish Physiol* [Internet]. 1998; 17:1–40. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Roy_Weber/publication/285189214_Hemoglobin_structure_and_function/links/56619e9708ae15e7462c5734.pdf (último acceso 16 septiembre 2016)
29. Makita Z, Vlassara H, Rayfield E, Cartwright K, Friedman E, Rodby R, et al. Hemoglobin-AGE: a circulating marker of advanced glycosylation. *Science* [Internet]. 1992 Oct 23; 258(5082):651–3. Disponible en: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1411574> (último acceso 16 Septiembre 2016)
30. Turk Z, Mesić R, Benko B. Comparison of advanced glycation endproducts on haemoglobin (Hb-AGE) and haemoglobin A1c for the assessment of diabetic control. *Clin Chim Acta* [Internet]. 1998 Oct; 277(2):159–70. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898198001284> (último acceso 16 Septiembre 2016)
31. Campuzano G, Latorre G. La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes. *Clínica El Lab* [Internet]. 2010 Jun; (80). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2010/myl105-6b.pdf> (último acceso 16 Septiembre 2016)

32. Mizutari K, Ono T, Ikeda K, Kayashima K, Horuichi S. Photo-Enhanced Modification of Human Skin Elastin in Actinic Elastosis by N-(Carboxymethyl) lysine, One of the Glycooxidation Products of the Maillard Reaction. *J Invest Dermatol* [Internet]. 1997 Jan 8; 108(5):797–802. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15428982> (último acceso 16 Septiembre 2016)
33. Hernández C, Sánchez M. Neuropatía Diabética. Etiopatogenia y clasificación. *Mediciego* [Internet]. 2014 Jun; 10(1). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol10_01_04/revisiones/r3_v10_0104.htm (último acceso 16 Septiembre 2016)
34. Olmos P, Niklitschek S, Olmos R, Faúndez J, Quezada T, et al. Bases fisiopatológicas para una clasificación de la neuropatía diabética. *Rev Med Chile* [Internet]. 2011 Aug; 140:1593–605. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v140n12/art12.pdf> (último acceso 16 Septiembre 2016)
35. Erbersdobler H.F, Faist V. Metabolic transit of Amadori Products. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2001; 45(3):177–81. Disponible en: <http://hinarilogin.research4life.org/uniquesigonlinelibrary.wiley.com/uniquesig0/doi/10.1002/1521-3803%2820010601%2945:3%3C177::AID-FOOD177%3E3.0.CO;2-A/pdf> (último acceso 16 Septiembre 2016)
36. Ashraf JM, Ahmad S, Choi I, Ahmad N, Farhan M, Tatyana G, et al. Recent advances in detection of AGEs: Immunochemical, bioanalytical and biochemical approaches: Technological Progress in Age Detection. *IUBMB Life* [Internet]. 2015 Dec; 67(12):897–913. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/iub.1450> (último acceso 16 Septiembre 2016)
37. Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giorano D, et al. Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *PNAS* [Internet]. 1997; 94(25):13915–20. Disponible en: <http://www.pnas.org/content/94/25/13915.full> (último acceso 16 Septiembre 2016)
38. Gaens KH, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. Advanced glycation endproducts and its receptor for advanced glycation endproducts in obesity. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2013 Feb; 24(1):4–11. Disponible en: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00041433-201302000-00003> (último acceso 16 Septiembre 2016)
39. Bierhaus A. AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovasc Res* [Internet]. 1998 Mar; 37(3):586–600. Disponible en: [http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1016/S0008-6363\(97\)00233-2](http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1016/S0008-6363(97)00233-2) (último acceso 16 Septiembre 2016)

40. Goh S-Y, Cooper ME. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Apr; 93(4):1143–52. Disponible en: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jc.2007-1817> (último acceso 16 Septiembre 2016)
41. Calderón J, Muñoz E, Quintanar M. Estrés Oxidativo y Diabetes Mellitus. *REB* [Internet]. 2013 Apr 10; 32(2):53–66. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/bmnd/publicaciones/ampb/numeros/2013/02/REB32%282%29Junio2013.pdf> (último acceso 16 Septiembre 2016)
42. Gopal P, Reynaert NL, Scheijen JLJM, Engelen L, Schalkwijk CG, Franssen FME, et al. Plasma advanced glycation end-products and skin autofluorescence are increased in COPD. *Eur Respir J* [Internet]. 2014 Feb 1; 43(2):430–8. Disponible en: <http://erj.ersjournals.com/cgi/doi/10.1183/09031936.00135312> (último acceso 16 Septiembre 2016)
43. Wu L, Ma L, Nicholson LFB, Black PN. Advanced glycation end products and its receptor (RAGE) are increased in patients with COPD. *Respir Med* [Internet]. 2011 Mar; 105(3):329–36. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0954611110004750> (último acceso 16 Septiembre 2016)
44. Basta G. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res* [Internet]. 2004 Sep; 63(4):582–92. Disponible en: <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1016/j.cardiores.2004.05.001> (último acceso 16 Septiembre 2016)
45. Méndez J. Productos finales de glicación avanzada y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Gac Médica México* [Internet]. 2002 Sep 7; 139(1):49–55. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2003/gm031g.pdf> (último acceso 16 Septiembre 2016)
46. Nomoto K, Yagi M, Hamada U, Naito J, Yonei Y. Identification of Advanced Glycation End products derived fluorescence spectrum in vitro and human skin. *Anti-Aging Med*. 2013; 10(5):92–100 (último acceso 16 Septiembre 2016)
47. Münch G, Keis R, Webels A, Riederer P, Baher U, Heidland A, et al. Determination of Advanced Glycation End products in Serum by Fluorescence spectroscopy and Competitive ELISA. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997; 35(5):669–77 (último acceso 16 Septiembre 2016)

48. Galler A, Muller G, Schinzel R, Kratzsch J, Kiess W, Munch G. Impact of Metabolic Control and Serum Lipids on the Concentration of Advanced Glycation End Products in the Serum of Children and Adolescents With Type 1 Diabetes, as Determined by Fluorescence Spectroscopy and N - (Carboxymethyl)Lysine ELISA. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Sep 1; 26(9):2609–15. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diacare.26.9.2609> (último acceso 16 Septiembre 2016)
49. Nicholl I, Stitt A, Moore J, Ritchie A, Archer D, Bucala R. Increased levels of advanced glycation endproducts in the lenses and blood vessels of cigarette smokers. *Mol Med* [Internet]. 1998; 4(9). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2230315/> (último acceso 28 Enero 2017)
50. Jara N. *Productos de glicación avanzada (AGEs) dietarios y su correlación con niveles plasmáticos*. Tesis Máster. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile [Internet]. 2011. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/116527> (último acceso 28 Enero 2017)
51. G A, A D. Advanced Glycation End Products (Ages) in Food: Focusing on Mediterranean Pasta. *J Nutr Food Sci* [Internet]. 2015; 05(06). Disponible en: <http://www.omicsonline.org/open-access/advanced-glycation-end-products-ages-in-food-focusing-on-mediterranean-pasta-2155-9600-1000440.php?aid=63980> (último acceso 29 Enero 2017)
52. Rodríguez J, Leiva L, Concha M, Mizón C, Bunout D, Barrera G, et al. Reducción Sérica De Productos Finales De Glicación Avanzada Séricos. *Nutr Hosp* [Internet]. 2015 Jun 1; (6):2511–2517. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/8936.pdf> (último acceso 28 Enero 2017)
53. Uribarri J. Restriction of Dietary Glycotoxins Reduces Excessive Advanced Glycation End Products in Renal Failure Patients. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2003 Mar 1; 14(3):728–31. Disponible en: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1097/01.ASN.0000051593.41395.B9> (último acceso 29 Enero 2017)
54. Meerwaldt R, Links T, Zeebregts C, Tio R, Hillebrands J-L, Smit A. The clinical relevance of assessing advanced glycation endproducts accumulation in diabetes. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2008; 7(1):29. Disponible en: <http://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2840-7-29> (último acceso 29 Enero 2017)

Glosario

1. **AGEs:** productos finales de glicación avanzada como resultado de una reacción no enzimática entre un azúcar y un el amino terminal de una proteína, principalmente lisina.
2. **Amadorinas:** inhibidores relativamente nuevos encargados de bloquear la conversión de productos de Amadori a AGEs, sustancia representativa: piridoxamina.
3. **Aminoguanidina:** molécula de la familia de las guanidinas que actúa como inhibidor de la síntesis de AGEs al atrapar grupos carbonilo reactivos formados durante la reacción de Maillard.
4. **Anfoterina:** Es una proteína que se une a la heparina la cual se regula en el cerebro y se encuentra relacionada con el crecimiento de las neuritas.
5. **CEL:** carboxietil lisina, uno de los compuestos finales de glicación avanzada.
6. **CML:** carboximetil lisina, uno de los productos finales de glicación avanzada.
7. **CPK:** creatinfosfokinasa, es una enzima citoplasmática que cataliza la transferencia de un fosfato de alta energía desde el fosfato de creatina.
8. **Cristalino:** es una estructura del ojo humano con forma de lente biconvexo que está situado tras el iris y delante del humor vítreo.
9. **DAG:** diacilglicerol, molécula intracelular que actúa como mediador de comunicación en la respuesta inflamatoria entre otras
10. **Dealdolización:** también llamada retro aldolización, es la ruptura de la reacción de aldolización que es utilizada para la fragmentación de las azúcares y obtención de materia para la glicación, al efectuarse la retro aldolización se obtiene una cetona y un aldehído.
11. **DN-RAGE:** isoforma de un receptor de AGEs que cuenta solamente con el dominio extracelular y transmembranal pero carece del dominio intracelular.
12. **DOLD:** dímero de lisina derivado de la 3-deoxiglucosona, el cual es un tipo de AGEs no tóxico.

- 13. ELISA:** ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, el cual será utilizado para la detección de AGEs fluorescentes como la pentosidina y no fluorescentes como carboximetil lisina por lo tanto es utilizada para la determinación cuantitativa de AGEs en muestras como suero, plasma, orina y otros fluidos corporales
- 14. Endotelina 1:** un potente vasoconstrictor y estimulante del crecimiento del músculo liso, sintetizada por el endotelio vascular en respuesta a una serie de factores como la angiotensina II, la insulina, la hipoxia y las elevaciones severas de la presión.
- 15. eNOS:** óxido nítrico sintasa endotelial, también conocida como óxido nítrico sintasa 3, es una oxidoreductasa responsable de la síntesis de óxido nítrico.
- 16. E-selectina:** son receptores de adhesión que forman una familia de glucoproteínas integrales de la membrana.
- 17. Espectroscopía:** es una técnica bioanalítica que mide la fluorescencia de la reacción de glicación mediante la identificación de los AGEs fluorescentes.
- 18. Fluoróforos:** sustancias que son capaces de emitir luz al ser excitadas por diferentes tipos de radiación.
- 19. Fumador Pasivo:** Inhalación involuntaria del humo de otra persona que fuma tabaco. Este humo ambiental de tabaco es una mezcla del humo exhalado por los fumadores y del humo emitido directamente por la combustión del cigarrillo al ambiente.
- 20. Furfural:** es un aldehído que se obtiene normalmente en la cadena de reacción de formación de AGEs, especialmente de la deshidratación de los productos de Amadori.
- 21. GO:** glioxal, dialdehído precursor para la formación de AGEs del grupo 5.
- 22. GOLD:** dímero de glioxal-lisina, tipo de AGEs no tóxico.
- 23. HM:** Material de alto peso molecular del cristalino principalmente formado por α -cristalinas.

- 24. HMF (hidroximetilfurfural):** o 5- (hidroximetil) -2-furaldehído, intermediario en la reacción de Maillard, es un compuesto heterocíclico que se forma durante la descomposición térmica de algunos azúcares
- 25. ICAM-1:** es una molécula de adhesión celular que se encuentra como ligando de la integrina LFA-1.
- 26. IL-1 α :** interleucina 1 alfa, es una citosina intracelular de adherencia a la membrana celular con ciertos efectos paracrinos en el entorno de la célula secretora.
- 27. IL-6:** Interleucina-6 es una glicoproteína secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF α . Es una citosina con actividad proinflamatoria
- 28. MAP quinasa:** son un grupo de quinasas relacionadas con ciertos aminoácidos activadas por mitógenos, regulan funciones celulares tales como la proliferación, expresión de genes, diferenciación, mitosis, supervivencia celular y apoptosis.
- 29. MGO:** piruvaldehído, derivado del ácido pirúvico, precursor de los productos finales de glicación avanzada.
- 30. Mielina:** Sustancia que cubre y protege los axones de ciertas células nerviosas y cuya función principal es la de aumentar la velocidad de transmisión del impulso nervioso.
- 31. MOLD:** dímero de metilglioxal-lisina, tipo de AGEs no tóxico.
- 32. NADP $^+$:** nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, coenzima en su forma oxidada que interviene en numerosas vías anabólicas.
- 33. NADPH:** nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, coenzima en su forma reducida que interviene en numerosas vías anabólicas.
- 34. NADPH oxidasa:** enzima encargada de la oxidación del NADPH hacia NADP.
- 35. NF- κ B:** factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas relacionado con la producción de anticuerpos.

- 36.NO:** Óxido nítrico, radical libre, vasodilatador de corta acción.
- 37.Péptido β -amiloide:** péptido de 36 a 43 aminoácidos que se sintetiza a partir de la Proteína precursora amiloide (APP). Dentro de sus funciones normales se incluyen la activación de quinasas, la protección contra estrés oxidativo, regulación del transporte de colesterol actuando como un factor de transcripción y actividad antimicrobiana (especialmente asociado con su acción pro-inflamatoria); además posee una importante relación con la enfermedad de Alzheimer.
- 38.RAGE:** receptor para AGEs.
- 39.RAS:** proteínas Ras, son un conjunto de reguladores moleculares de rutas de transmisión de señales intracelulares que controlan diferentes respuestas celulares.
- 40.Reductonas:** compuesto derivado de un azúcar la cual pierde dos moléculas de agua, el cual es uno de los intermediarios en la reacción de Maillard.
- 41.ROS:** Especies reactivas de oxígeno, también conocido como radical libre, moléculas altamente reactivas, poseen importancia por ser relacionados con daño celular.
- 42.S100/calgranulina:** proteína que se une a calcio cuya función ha sido estudiada in vitro relacionándose con el bloqueo de la precipitación del calcio en la orina.
- 43.sRAGE:** receptor para AGEs soluble, el cual posee solamente el dominio extracelular y se encuentra libremente en circulación sistémica.
- 44.TGF- β 1:** factor de crecimiento transformante beta 1 es un polipéptido que forma parte de la superfamilia de los factores de crecimiento transformante beta de las citosinas, ésta proteína se encuentra encargada de diferentes funciones celulares tales como crecimiento celular, proliferación celular, diferenciación celular y apoptosis.
- 45.TNF- α :** Factor de necrosis tumoral alfa, es una proteína del grupo de las citosinas liberadas por las células del sistema inmune ésta interviene en la

inflamación, la apoptosis, así como en la destrucción articular secundarias a la artritis reumatoide, como en otras patologías.

- 46. Vasa nervorum:** pequeños vasos sanguíneos arteriales que suministran sangre oxigenada a los nervios y plexos del sistema nervioso periférico.
- 47. VCAM-1:** Molécula de adhesión vascular 1, encargada de mediar la adhesión de linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos al endotelio, también funciona en la transducción de la señal celular entre leucocitos y endotelio.
- 48. VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular, su principal función es la angiogénesis y la vasculogénesis; promueve angiogénesis en los procesos de inflamación crónica, cicatrización y en tumores.
- 49. α -Cristalina:** Subclase de cristalinas que proporciona la mayoría de la capacidad refractiva y de translucidez del cristalino en vertebrados; se unen a proteínas desnaturalizadas para mantenerlas en solución y conservando así la translucidez del cristalino.
- 50. β -Cristalina:** Subclase de cristalinas que proporciona poder refractivo y translúcido al cristalino de los vertebrados.
- 51. γ -Cristalina:** Subclase de cristalinas que proporciona poder refractivo y translúcido al cristalino de los vertebrados.
- 52. UA:** Unidades arbitrarias utilizadas para la medición de fluorescencia en piel y orina resultado de normalización matemática.

Anexos

Consentimiento informado

El grupo investigador conformado por Alfredo Aguirre, Susan Pleitez y su asesor William Hoyos con el presente documento pretenden informar sobre el tema de investigación para optar al grado de Doctorado en Medicina titulado: **“Validación de una técnica no invasiva por autofluorescencia en Tabaquismo como fuente exógena importante de productos finales de glicación avanzada”** realizado por Estudiantes de Medicina en Servicio Social de la Universidad Dr. José Matías Delgado, para optar por el grado de Doctorado en Medicina.

Se define como producto final de glicación avanzada (AGEs) a la unión de sustancias como grasas y proteínas con carbohidratos principalmente glucosa, estos se encuentran preformados en diversos alimentos y otros productos entre ellos el humo del cigarrillo; estos compuestos predisponen al desarrollo de enfermedades crónicas como diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares, por lo cual se pretende medir la cantidad de éstos a través de nuevas técnicas no invasivas en piel, contrastando los resultados con la cantidad encontrada en muestras de orina, para evaluar el riesgo de desarrollar dichas enfermedades al exponerse al humo del tabaco.

Razón por la cual se pide su colaboración mediante el llenado de una encuesta, sobre hábitos alimenticios, padecimiento de enfermedades crónicas y hábito tabáquico, así mismo proporcionar una muestra de orina para la medición de los niveles de AGEs excretados, así como la medición de los productos de glicación avanzada en piel mediante un método llamado fotoluminiscencia, el cual no representa riesgo alguno y será realizado por equipo especializado.

Cabe recalcar que los datos obtenidos serán confidenciales y de uso oficial para los miembros del equipo investigador.

Muchas gracias por su participación.

Al firmar a continuación, usted acepta que es conocedor de todo el contenido presentado anteriormente y que está de acuerdo con todas las condiciones, riesgos y beneficios que han sido descritas en este documento.

Yo _____,
acepto voluntariamente participar ésta investigación el día _____
del mes de _____ del 2016.

Firma



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ
MATÍAS DELGADO
Facultad de Ciencias de la Salud
Dr. Luis Edmundo Vásquez
Escuela de Medicina

Encuesta de información general

Tesis para optar por el grado de Doctorado en Medicina: **“Aplicación de una técnica no invasiva por autofluorescencia para la determinación de productos finales de glicación avanzada en Tabaquistas”**.

Marque con una X el recuadro de la derecha según crea conveniente o conteste con letra legible los espacios en blanco, se agradecerá total honestidad y colocar los datos pertinentes.

| | | | | |
|-----------|--|--|----------|--|
| Masculino | | | Femenino | |
| Peso | | | Edad | |
| Talla | | | IMC | |

1 Fumador: Si _____ No _____

2 Cantidad de cigarrillos fumados al día: _____

3 Cantidad de años de fumar: _____

Nombre: _____

Número de contacto: _____



Encuesta de ficha clínica

Tesis para optar por el grado de Doctorado en medicina: **“Aplicación de una técnica no invasiva por autofluorescencia para la determinación de productos finales de glicación avanzada en Tabaquistas”**.

Si presenta alguna condición médica marque con una X el recuadro de la izquierda, se agradecerá total honestidad y colocar los datos pertinentes.

| | | | |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | Diabetes Mellitus | <input type="checkbox"/> | Ovarios Poliquísticos |
| <input type="checkbox"/> | Hipertensión Arterial | <input type="checkbox"/> | Insuficiencia Renal |
| <input type="checkbox"/> | Hipotiroidismo | <input type="checkbox"/> | Hipertiroidismo |
| <input type="checkbox"/> | Epilepsia/ Convulsiones | <input type="checkbox"/> | Asma |
| <input type="checkbox"/> | Cardiopatía Congénita | <input type="checkbox"/> | Alcoholismo |
| <input type="checkbox"/> | Trombosis Venosa | <input type="checkbox"/> | Enfermedades Autoinmunes |
| <input type="checkbox"/> | Ninguna | <input type="checkbox"/> | Otros |

Especifique otras comorbilidades:

Menú de dieta para modificación de escenario experimental

| DIETA DEL PRIMER DÍA | | |
|---|--|--|
| DESAYUNO | ALMUERZO | CENA |
| <ul style="list-style-type: none"> - Cereal “corn flakes” - Un vaso de leche descremada. | <ul style="list-style-type: none"> - Pechuga de pollo sin piel frita por 15 minutos. - Media taza de arroz - 1 pan blanco pequeño - 1 vaso de refresco natural | <ul style="list-style-type: none"> - ½ lata de atún en agua - 2 rebanadas de pan tostado. - 1 yogurt de frutas |
| AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Cereal: 70kU/porcion • Leche descremada: 4kU/porcion TOTAL: 74kU | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Pechuga de pollo: 5510 kU/porcion. • Arroz blanco: 9kU/prc • Pan blanco: 25kU/prc TOTAL: 5,544kU | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Atún en agua (porcion 407) media porcion: 203.5kU/prc • Pan tostado (1 rebanada: 32) , dos rebanadas: 64kU/prc. • 1 yogurt de fruta: 10kU/prc TOTAL: 277.5kU |

| DIETA DEL SEGUNDO DÍA | | |
|---|---|---|
| DESAYUNO | ALMUERZO | CENA |
| <ul style="list-style-type: none"> - Cereal “corn flakes” - Un vaso de leche descremada. | <ul style="list-style-type: none"> - 1 porción de albóndigas en salsa. - Media taza de arroz blanco. - Un pan tostado | <ul style="list-style-type: none"> - 1 huevo revuelto. - 2 rebanadas de pan tostado - un vaso de avena instantanea |
| AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Cereal: 70kU/porcion • Leche descremada: 4kU/porcion TOTAL: 74kU | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Albondigas: 2567kU/prc. • Arroz blanco: 9kU/prc. • Pan tostado: 32kU/prc TOTAL: 2,608kU | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Huevo revuelto: 52Ku/prc • Pan tostado: 64kU 2 porciones. • Avena instantanea: 25ku/prc (un vaso). TOTAL: 141Ku |

| DIETA DEL TERCER DIA | | |
|--|--|---|
| DESAYUNO | ALMUERZO | CENA |
| <ul style="list-style-type: none"> • 2 pancakes con miel de maple • 1 Café con leche y azucar. | <ul style="list-style-type: none"> • Una porción de macarrones (pasta) con queso. • Un pan tostado • Coca-cola (normal, lighth o Zero) | <ul style="list-style-type: none"> • 1 sandwich de pan blanco con jamon y queso americano procesado. • 1 vaso de avena instantanea. • |
| AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Pancakes: 247 kU/porción • Café c/ leche: 19kU/porción | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Macarrones con queso: 2728kU/porción • Pan tostado: 32kU/porción- • Coca-cola normal: 7kU • Coca-cola Lighth o Zero: 3kU/porción. • | Ages consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Pan blanco: 25kU/porción. • Jamón: 2114kU/porción. • Queso americano: 2603kU/porción. • Avena: 25kU/porción (vaso). |
| TOTAL: 513kU | TOTAL: <ul style="list-style-type: none"> • Coca-cola normal: 2767 kU • Coca-cola L o Z: 2763 kU | TOTAL: 4767kU |

| DIETA DEL CUARTO DÍA | | |
|---|---|---|
| DESAYUNO | ALMUERZO | CENA |
| -2 pancakes - Un vaso de leche descremada | -1 porción de carne guisada -media taza de arroz blanco -1 Pan francés -1 vaso de refresco natural | -1 porción de verduras a la plancha -1 huevo revuelto - 1 porción de frijoles rojos salcochados -1 vaso de leche descremada |
| AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Pancakes: 247kU/porción • Leche descremada: 4kU/porción | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Carne guisada: 720kU/prc. • Arroz blanco: 9kU/prc. • Pan francés: 16kU/prc | AGEs consumidos: <ul style="list-style-type: none"> • Huevo revuelto: 52Ku/prc • Porción de frijoles rojos salcochados: 232kU. • Leche descremada: 4ku/porción • Porción de verduras a la plancha: 226 kU/porción |
| TOTAL: 498kU | TOTAL: 745kU | TOTAL: 514kU |

Inventario dietético

| Primer Día | | | | |
|--------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------|
| Desayuno | Refrigerio | Almuerzo | Refrigerio | Cena |
| | | | | |
| Segundo Día | | | | |
| Desayuno | Refrigerio | Almuerzo | Refrigerio | Cena |
| | | | | |