

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS
ESCUELA DE FISICA



TRABAJO DE GRADUACIÓN.

***FOTOLUMINISCENCIA DE PRODUCTOS FINALES DE
GLICACIÓN AVANZADA EN TEJIDOS HUMANOS.***

Presentado por:
SIMÓN ARGUETA AYALA
CARNET: AA06084

Para optar al agrado de:
LICENCIADO EN FÍSICA

Docente director:
DR. CARLOS ERNESTO RUDAMAS FLORES

Ciudad Universitaria, Septiembre 2017

Aprobación de docente director:

Prof. Dr. Carlos Ernesto Rudamas Flores

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR:

M.Sc. Roger Armando Arias

SECRETARIO GENERAL:

M.S.c. Cristóbal Hernán Ríos Benítez

FISCAL GENERAL INTERINO:

Licda. Dina Alhely Castellón Cruz

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y MATEMATICA:

Lic. Mauricio Hernán Lovo Córdoba

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE FISICA:

M.Sc César Armando Alvarado Batres

Ciudad Universitaria, Septiembre 2017

Dedicatoria

Dedicado principalmente a mis padres que me dieron la vida y se preocuparon por mí y mis hermanos. Por proporcionarnos todo lo que pudieron en condiciones de pobreza, a mis hermanos mayores; Juan Ayala quien marco el camino a seguir como ejemplo, junto a mi hermana mayor Ángela Argueta, quienes iniciaron este nuevo proyecto con el financiamiento de un año en la Universidad y sin olvidar a mi otro hermano mayor Lorenzo Argueta, que es el principal protagonista de este logro, con quien estaré agradecido toda la vida por apoyarme económicamente todos estos años, que sin su apoyo habría sido difícil obtener este triunfo y a toda mi familia en general, a la Comunidad Santa Marta y a nuestros héroes y mártires que ofrendaron sus vidas por un nuevo amanecer, por una nueva comunidad, por una nueva Santa Marta, con oportunidades e igualdad social.

Agradecimientos

Agradezco a todos los mencionados anteriormente, porque sin ellos yo no estuviera hoy donde estoy, a todas las personas en general, amigos y compañeros, a la Asociación de Desarrollo Económico Social Santa Marta ADES, por haberme dado la oportunidad del acceso a uno de los dos recintos universitarios, financiando parcialmente mis estudios. A la Comunidad Santa Marta, a quien le debemos todo, por los que ofrendaron sus vidas para que nosotros como hijos de santa marta tuviéramos un mejor futuro.

Al Grupo de investigación GI-Rudamas, por las constantes discusiones y críticas constructivas, que se llevaron a cabo para seguir mejorando y avanzando cada vez más en la investigación científica en la Universidad de El Salvador y en nuestro pequeño país el Salvador.

Al Dr. Rudamas por haber aceptado ser mi asesor en este trabajo de investigación y por colaborar con el transporte hasta el centro de toma de datos. A Meme Barrios y Hamilton Ponce, por haberme acompañado y colaborado en todas las mediciones.

Al Dr. Hoyos y su equipo de tésistas; Ana Cristina Benítez, Cristina Patricia Bermúdez y Verónica Cecilia Fuentes, por formar parte de este grupo de investigación.

A los proyectos (CIC-UES) 05.35 y 09.20, por haber financiado parcialmente este trabajo de investigación.

A la Universidad de El Salvador por haberme dado la oportunidad de poder estudiar una carrera y poder desempeñarme como profesional en la sociedad salvadoreña y poder devolver un poco el esfuerzo que el pueblo salvadoreño ha hecho por mí.

INDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	i
Agradecimientos	ii
INDICE DE FIGURAS	iv
INDICE DE TABLAS	v
1. RESUMEN	6
2. INTRODUCCION	7
Objetivo general:.....	7
Objetivos específicos:.....	7
3. FUNDAMENTO TEORICO.....	9
3.1 Productos finales de glicación avanzada (AGEs)	9
3.1.1 Fuentes de generación de AGEs	10
3.1.2 Fuentes endógenas de AGEs.	10
3.1.3 Fuentes exógenas de AGEs.....	11
3.1.4 Proteínas	12
3.2 Interacción de la radiación con la materia.	13
3.2.1 Dispersión:.....	13
3.2.2 Absorción	14
3.2.3 Emisión.....	15
3.3 Antecedentes y estado del conocimiento.....	15
4. METODOLOGÍA.....	20
4.1 Población en estudio.....	20
4.2 Experimentos de fotoluminiscencia en piel.	21
4.2.1 Montaje para medir fluorescencia en piel.....	21
4.2.2 Equipo utilizado para medir fluorescencia de piel.....	21
4.2.3 Proceso para la toma de espectros de fluorescencia de piel.....	22
4.3 Equipo y materiales utilizados.	22
4.3.1 Espectrógrafo USB4000-FL-395.....	22
4.3.2 Fuente de excitación	23
4.3.3 Filtros pasa banda y paso alto.....	23
4.3.4 Fibra óptica	24
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
5.1 Espectros obtenidos.....	25

5.2 Análisis de los espectros obtenidos.	26
5.3 Análisis de la fotoluminiscencia en el máximo de 440nm.	29
5.3.1 Fotoluminiscencia de personas con dieta alimenticia.	29
5.3.2 Fotoluminiscencia de personas sin dieta alimenticia.	39
6. CONCLUSIONES.	41
7. RECOMENDACIONES.	42
BIBLIOGRAFIA:	43
ANEXOS	45
CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	47

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1: Esquema de formación de AGEs b) diferentes estructuras de AGEs.	9
Figura 2: Esquema de formación del colágeno vinculado.....	10
Figura 3: Fenómenos que ocurren de la interacción de la radiación con la materia.	14
Figura 4: Absorción y Emisión	14
Figura 5: Espectros fluorescencia de personas con DM, enfermedad RC y control.	16
Figura 6: Espectros normalizados y excitados en una banda de 355-405nm.	16
Figura 7: Emisión de la piel, obtenida en diferentes partes del cuerpo.	17
Figura 8: Emisión de la piel con diferentes fuentes de excitación.	17
Figura 9: Resultados obtenidos en el laboratorio de espectroscopia, GI-Rudamas.	18
Figura 10: Medidas de fluorescencia obtenidas de diferentes partes del antebrazo.....	18
Figura 11: Se muestra el esquema para medir fluorescencia piel.	21
Figura 12: Equipo para medir fluorescencia de piel.....	21
Figura 13: Estructura interna del espectrógrafo USB4000 y el recorrido de la luz.....	22
Figura 14: eficiencia de rejilla del espectrógrafo USB4000.....	22
Figura 15: Espectro lámpara de mercurio (Laboratorio de Espectroscopia Óptica).....	23
Figura 16: intensidad del máximo de excitación de la fuente en función del tiempo.	23
Figura 17: Transmitancia de filtros.....	24
Figura 18: Espectro de transmisión de la fibra utilizada.	24
Figura 19: El primer espectro nuestro, segundo de Bulgaria, excitados a 365nm.....	25
Figura 20: Espectros nuestras y otras medidas en Groningen, países bajos Holanda.....	25
Figura 21: Espectro de nuestros resultados con los diferentes máximos asociados.	26
Figura 22: En figura se muestra un espectro con sus máximos deconvolucionados.	26
Figura 23: curva de nivel de excitación y emisión de algunos fluoróforos.	28
Figura 24: Espectro con los compuestos asociados a cada máximo.	28
Figura 25: Espectro de la izquierda crudo sin tratar y espectro derecha normalizada.....	29
Figura 26: Se muestra un gráfico de caja de las cinco medidas realizadas.	30
Figura 27: Se muestra un gráfico de pendientes de los expedientes.	30
Figura 28: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs Peso.....	32
Figura 29: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs IMC.....	33

Figura 30: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs CAD.	33
Figura 31: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs PAS.	34
Figura 32: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs PAD.....	35
Figura 33: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs Gl.	35
Figura 34: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs HDL.....	36
Figura 35: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs TG.	36
Figura 36: Pendientes de las variables correlacionadas con PL440nm.....	37
Figura 37: Coeficientes de correlación de Pearson y Spearman.....	37
Figura 38: Significancia estadística o P-valor de las correlaciones.....	38
Figura 39: Se muestra PL440nm en función de la edad de los pacientes.	39
Figura 40: pendientes de las linea de tendencia de los expedientes sin dieta.	39
Figura 41: Comparación de área bajo la curva a 440nm e intensidad a 440nm.	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cantidad de medidas realizadas de PL440nm (AGEs)	20
Tabla 2: Datos más importantes del espectro deconvolucionado.....	27
Tabla 3: Principales fluoróforos cutáneos.....	27
Tabla 4: variables estudiadas y porcentaje que subió y bajo.....	31
Tabla 5: se muestran valores de Pearson y Spearman y sus p-valor	38

1. RESUMEN

Por medio de la técnica espectroscopia de fotoluminiscencia (PL del inglés "Photoluminescence") se midió la emisión de la piel a 440nm asociada a niveles de Productos Finales de Glicación Avanzada (AGEs del inglés Advanced glycation end-products) de 39 pacientes, y medidas antropométricas; peso, talla, circunferencia abdominal y presión arterial, medidas bioquímicas; glucemia en ayunas, colesterol HDL y triglicéridos, donde sus edades oscilan entre 48 y 86 años, entre ellos hay pacientes sanos y otros con algún tipo de enfermedad como diabetes, obesidad, hipertensión arterial y artritis reumática etc.

También se midió otro grupo de personas, estudiantes de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, con edades de 20-35años, todos "sanos". En esta ocasión se inició con 20, pero no todos terminaron de realizarse todas las mediciones, al final solo se tomaron 10 de ellos que cumplieron con todas las medidas. A este grupo no se les tomaron medidas antropométricas y bioquímicas.

De los 39 pacientes, 7 se realizaron las cinco mediciones, seis pacientes se realizaron cuatro mediciones, siete se realizaron tres mediciones, cinco se realizaron solo dos mediciones y catorce solo una medición. Donde 24 de ellos nos proporcionaron alguna información de la Fotoluminiscencia a 440nm de los AGEs (PL440nm (AGEs)), 16 disminuyeron sus niveles de PL440nm (AGEs) y 9 los aumentaron esto se debe a que los 16 siguieron correctamente la dieta más los ejercicios aeróbicos, mientras que 9 no. Así como bajaron la PL440nm (AGEs), también su peso, circunferencia abdominal y presión arterial incluyendo las medidas bioquímicas. El resto que son 14, pues no tenemos más información de ellos más que solo una medición. En general podemos decir que los niveles de PL440nm (AGEs) correlacionan significativamente y positivamente con las variables antropométricas y bioquímicas. De las 10 personas sanas que se realizaron todas las medidas, todos subieron sus niveles de PL440 (AGEs) significativamente.

De los 25 pacientes que nos proporcionaron información, 9 de ellos aumentaron los niveles de PL440nm (AGEs), constituyendo el 36% y 16 los disminuyeron con el 64%. Las disminuciones de PL440 (AGEs) en cada uno de los expedientes se basan en el buen seguimiento de la dieta y por los ejercicios físicos realizados, que es lo que realmente esperábamos de esta investigación. Las correlaciones significativas y positivas de la PL440nm (AGEs) con las variables antropométricas y bioquímicas nos confirma que si es posible bajar los niveles de PL440nm (AGEs) con una dieta y nos dan validación de nuestra investigación.

2. INTRODUCCION

Los Productos Finales de Glicación Avanzada (AGEs), son reacciones químicas entre azúcares con proteínas, péptidos o ácidos nucleicos. Los AGEs están relacionados con diversidad de enfermedades entre ellas podemos mencionar algunas como son la diabetes mellitus, enfermedad renal, hipertensión arterial, obesidad, Alzheimer cáncer etc [1-4]. Debido a eso, el aumento de AGEs con el tiempo predice complicaciones relacionadas con estas enfermedades. Sin embargo no hay marcadores clínicamente aplicables para la medición de AGEs in vivo [5-7].

Existen dos fuentes de generación de AGEs, una es endógena que se da por el aumento de glucosa en el torrente sanguíneo y la otra exógena por el consumo de alimentos, tabaco y bebidas alcohólicas, que es en la que nos vamos a enfocar en esta investigación [2-4].

En muchos países del mundo como; Holanda, Bulgaria, Canadá, Estados Unidos y México etc, están utilizando la técnica de espectroscopia óptica para detectar diferentes tipos de enfermedades, principalmente en la medición de AGEs. Estos emiten a una longitud de onda de 440nm por medio del colágeno cruzado, excitando la piel en una banda de 300-420nm con un máximo en 365nm [5-7].

Es por esto, que lo que nosotros pretendemos en este trabajo de investigación es medir la emisión de la piel a 440nm asociada a niveles de AGEs presentes en el cuerpo, en un grupo de personas sanas y enfermas de avanzada edad, sometidas a una dieta alimenticia, a través de la técnica espectroscópica de fotoluminiscencia, que nos sirva para saber si los niveles de AGEs pueden disminuir con una dieta baja en calorías y como un indicador de las enfermedades, en función del tiempo. A partir de eso nos planteamos los objetivos.

Objetivo general:

- ✓ Utilizar la técnica de espectroscopia óptica de fotoluminiscencia para medir productos finales de glicación avanzada, en un grupo de personas con una dieta alimenticia, en tejido humano.

Objetivos específicos:

- ✓ Medir la fotoluminiscencia de la piel, en el dedo pulgar, a 440 nm, asociada a niveles de AGEs presentes en el cuerpo.
- ✓ Estudiar la variación de los niveles de AGEs en una dieta, empleando medidas de fotoluminiscencia.
- ✓ Realizar gráficos de correlación de fotoluminiscencia de la piel a 440nm (AGEs) con las variables antropométricas y bioquímicas.

En el fundamento teórico definimos que son los AGEs y como se forman, los más estudiados bibliográficamente, los tipos de fuentes de generación de estos, antecedentes, así como el principio físico utilizado. En la metodología describimos la muestra, equipo, montaje experimental y proceso de medición.

En los Resultados y Discusión mostraremos espectros obtenidos de PL, gráficos de correlación entre PL440nm (AGEs) y las variables antropométricas y bioquímicas, los índices de Pearson y Spearman y sus significancia estadística, también un gráfico de PL440nm en función de la edad, una lista de estudios relacionados con nuestra investigación y Finalizamos con las conclusiones y recomendaciones.

Esta investigación está basada en los lineamientos de los procesos de graduación de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Y en el libro de sampieri "metodología de la investigación científica".

3. FUNDAMENTO TEORICO

3.1 Productos finales de glicación avanzada (AGEs)

Los Productos Finales de Glicación Avanzada, constituyen un grupo complejo y heterogéneo de compuestos formados por la reacción no enzimática de azúcares reductores como la glucosa con los grupos aminos libres de las proteínas (lisina y arginina), péptidos y ácidos nucleicos (ADN) [1- 4].

El proceso de formación de los AGEs se inicia con la unión de un azúcar reductora (en este caso una glucosa) con una proteína, como se muestra en la figura 1a, para formar la base de Schiff o productos de glicación temprano, este proceso puede llevarse a cabo en minutos y/o horas dependiendo de las concentraciones de glucosa y siendo a un reversible. La base de Schiff sufre reordenamientos químicos debido al aumento de más glucosa para forma los productos de Amadori, también llamados productos de glicación intermedio, siendo más estables, pero aun reversibles, entre los más conocidos figuran: cetoamina, fructosamina y la hemoglobina glucosilada (Hb_{A1C}), que se usa en el control de pacientes diabéticos. Luego los productos de Amadori sufren re-arreglos moleculares complejos e irreversibles como condensación, oxidación y deshidratación, hasta convertirse en los productos finales, la cual puede llevarse a cabo en semanas o meses y se caracterizan por ser estables y no reversibles [2, 3,8-10]

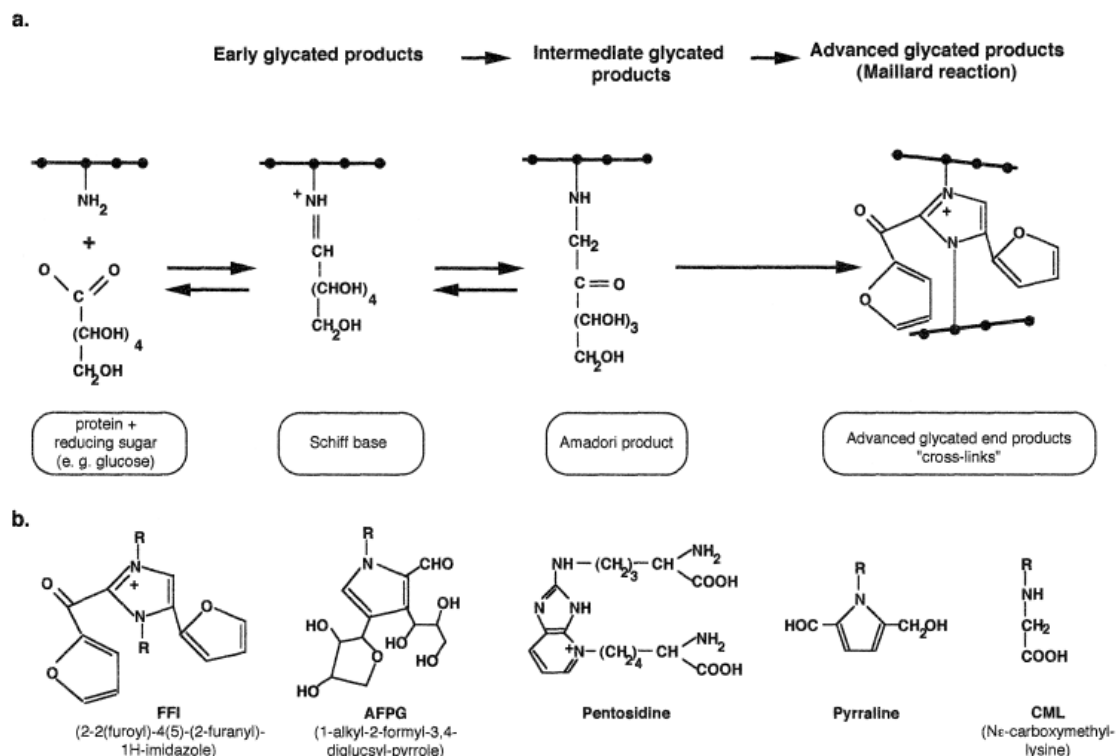


Figura 1: Esquema de formación de AGEs b) diferentes estructuras de AGEs [10].

Los AGEs más reportados bibliográficamente son: pentosidina, pirralina y carboximetil lisina (CML). Estos productos se caracterizan por ser estables y tener propiedades fluorescentes como la pentosidina [3, 8, 9]. El AGE más común es carboximetil lisina (CML), el cual se encuentra elevado en pacientes con función cardiovascular alterada y

disfunción endotelial glomerular. Así mismo metilglicoxal se encuentra elevado en pacientes diabéticos, enfermedad de Alzheimer, enfermedad renal, alteraciones macro y microvasculares [3].

La glucosa se une al colágeno y formar el Cross-Linked o colágeno cruzado [11]. La autofluorescencia de la piel entre otros está relacionada con la fluorescencia del colágeno cruzado, con una emisión en 440nm [5, 6,7].

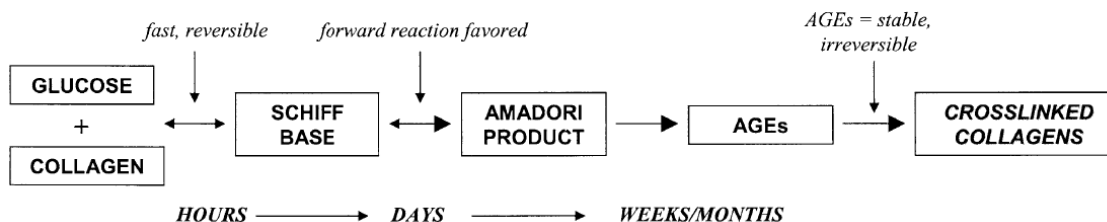


Figura 2: Esquema de formación del colágeno vinculado [12].

3.1.1 Fuentes de generación de AGEs.

Existen dos fuentes de generación de AGEs, una es endógena y la otra exógena.

3.1.2 Fuentes endógenas de AGEs.

La glucosa tiene un papel primordial en el proceso debido a su alta concentración en el plasma, aunque otros azúcares reductores son implicados también (fructosa, galactosa, manosa y xilulosa). En las proteínas los AGE se forman sobre residuos de lisina o arginina predominantemente. Además de la reacción de Maillard otras vías pueden originar los AGE, como por ejemplo la autooxidación de la glucosa y la peroxidación de los lípidos que originan derivados dicarbonílicos a partir de un incremento del estrés oxidativo [2, 8,13].

Las especies dicarbonílicas derivadas de la glucosa, tal como el metilglicoxal y el glicoxal, son altamente reactivas y se cree que son los intermediarios metabólicos precursores de la mayoría de los productos glicosilados y no directamente la glucosa, que es un compuesto poco reactivo. Como estos compuestos se producen intracelularmente hay una mayor posibilidad de glicar las proteínas intracelulares que las extracelulares. En consecuencia los niveles de los AGE tienden a ser mayores en las proteínas celulares que en las plasmáticas. La glicación es el término más general para la unión no enzimática de un azúcar a otra biomolécula. La glicosilación es un proceso no enzimático y la glicosilación es el proceso enzimático formando un enlace glicosídico [2, 8,13].

Los AGE son producidos normalmente y se acumulan con la edad. En el envejecimiento normal la formación de AGE es más lenta y ocurre particularmente sobre proteínas de larga vida. En la diabetes la formación y acumulación de los AGEs se acelera debido a los altos niveles de glucosa sanguínea. En diversos estudios el nivel sérico de los AGE es mayor en los diabéticos que en su contraparte no diabética. Diversos estudios han asociado los AGE séricos y tisulares con las complicaciones micro y macrovasculares

de la diabetes (aterosclerosis, retinopatía, nefropatía y neuropatía) y con otras patologías, entre ellas la enfermedad de Alzheimer [2, 8,13].

Los RAGEs son receptores multi-ligandos que median muchos de los efectos de los AGEs y son expresados en muchos tejidos a nivel de superficie celular de células endoteliales, fagocitos mononucleares, monocitos, macrófagos, hepatocitos microglia, células de músculo liso, astrocitos, ciertas neuronas, células mesangiales y podocitos entre otras. Bajo condiciones normales la expresión de los RAGEs es baja, mientras que en condiciones patológicas, tales como la inflamación y la diabetes, hay un mayor nivel de los mismos, coincidente con un mayor nivel de AGE [2, 8,13].

En resumen las fuentes endógenas provienen del incremento de glucosa en el torrente sanguíneo, esta se une con proteínas (ejemplo colágeno) y forman los AGEs, estos llegan a los órganos ocasionando graves daños, es por esto que tienen relación con muchas enfermedades como: la diabetes si hay incremento de azúcar, enfermedad renal si dañan los riñones y cáncer si cambian la estructura del ADN etc [2, 8,13].

3.1.3 Fuentes exógenas de AGEs.

Alimentación.

El proceso de formación de los AGEs fue descrito en 1912, por un químico de apellido Maillard, y ha sido usada por varios años en la industria alimenticia, porque sus productos finales agregan color, sabor y olor agradable a los alimentos [8].

Diversos factores alteran el contenido de los AGEs en los alimentos; desde su composición (contenido nutricional y pH) hasta procesos de manipulación para preservarlos (temperatura, humedad, duración de cocción y el tipo de preparación). En la actualidad se utilizan diversos procesos de cocción de alimentos para mejorar su seguridad, disponibilidad y sabor, dando origen a la reacción de Maillard; principalmente en producción de caramelo, café, pan, bebidas carbonatadas, entre otros [3].

El contenido de los AGEs en los alimentos está directamente relacionado con el contenido de proteínas y grasas, por ejemplo; las grasas y proteínas contienen de 12 a 30 veces más contenido de productos de glicación avanzada que los demás grupos alimenticios. Estudios recientes han demostrado un incremento significativo de los mismos en plasma 2 horas posteriores a la ingesta, asociándolos con un incremento inmediato de los niveles libres en plasma [15].

De la cantidad de AGEs ingeridos en la dieta, un 10% se transporta en el torrente sanguíneo, un 60% permanecerán en los tejidos, y solamente un 30% será excretado por el riñón en pacientes sanos. La depuración renal de los AGEs disminuye el riesgo de daños posteriores, por lo que el riesgo es mayor en adultos mayores. La acumulación de productos de glicación avanzada en los tejidos se ha asociado a un incremento de productos de oxidación, cuya acumulación es directamente proporcional al riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas en etapas posteriores de la vida [13].

3.1.4 Proteínas

¿Qué son las proteínas?

Las proteínas son moléculas formadas por aminoácidos que están unidos por un tipo de enlaces conocidos como enlaces peptídicos. El orden y la disposición de los aminoácidos dependen del código genético de cada persona. Todas las proteínas están compuestas por [16]:

- ✓ Carbono
- ✓ Hidrógeno
- ✓ Oxígeno
- ✓ Nitrógeno

Y la mayoría contiene además azufre y fósforo.

Las proteínas suponen aproximadamente la mitad del peso de los tejidos del organismo, y están presentes en todas las células del cuerpo, además de participar en prácticamente todos los procesos biológicos que se producen [16].

Funciones de las proteínas

De entre todas las biomoléculas, las proteínas desempeñan un papel fundamental en el organismo. Son esenciales para el crecimiento, gracias a su contenido de nitrógeno, que no está presente en otras moléculas como grasas o hidratos de carbono. También lo son para las síntesis y mantenimiento de diversos tejidos o componentes del cuerpo, como los jugos gástricos, la hemoglobina, las vitaminas, las hormonas y las enzimas (estas últimas actúan como catalizadores biológicos haciendo que aumente la velocidad a la que se producen las reacciones químicas del metabolismo). Asimismo, ayudan a transportar determinados gases a través de la sangre, como el oxígeno y el dióxido de carbono, y funcionan a modo de amortiguadores para mantener el equilibrio ácido-base y la presión oncótica del plasma [16].

Otras funciones más específicas son, por ejemplo, las de los anticuerpos, un tipo de proteínas que actúan como defensa natural frente a posibles infecciones o agentes externos; el colágeno, cuya función de resistencia lo hace imprescindible en los tejidos de sostén o la miosina y la actina, dos proteínas musculares que hacen posible el movimiento, entre muchas otras [16].

Propiedades

Las dos propiedades principales de las proteínas, que permiten su existencia y el correcto desempeño de sus funciones son la estabilidad y la solubilidad [16].

La primera hace referencia a que las proteínas deben ser estables en el medio en el que estén almacenadas o en el que desarrollan su función, de manera que su vida media sea lo más larga posible y no genere contratiempos en el organismo [16].

En cuanto a la solubilidad, se refiere a que cada proteína tiene una temperatura y un pH que se deben mantener para que los enlaces sean estables [16].

Las proteínas tienen también algunas otras propiedades secundarias, que dependen de las características químicas que poseen. Es el caso de la especificidad (su estructura hace que cada proteína desempeñe una función específica y concreta diferente de las demás y de la función que pueden tener otras moléculas), la amortiguación de pH (pueden comportarse

como ácidos o como básicos, en función de si pierden o ganan electrones, y hacen que el pH de un tejido o compuesto del organismo se mantenga a los niveles adecuados) o la capacidad electrolítica que les permite trasladarse de los polos positivos a los negativos y viceversa [16].

Clasificación de las proteínas

Las proteínas son susceptibles de ser clasificadas en función de su forma y en función de su composición química. Según su forma, existen proteínas fibrosas (alargadas, e insolubles en agua, como la queratina, el colágeno y la fibrina), globulares (de forma esférica y compacta, y solubles en agua. Este es el caso de la mayoría de enzimas y anticuerpos, así como de ciertas hormonas), y mixtas, con una parte fibrilar y otra parte globular [16].

Dependiendo de la composición química que posean hay proteínas simples y proteínas conjugadas, también conocidas como heteroproteínas. Las simples se dividen a su vez en escleroproteínas y esferoproteínas [16].

Nutrición

Las proteínas son esenciales en la dieta. Los aminoácidos que las forman pueden ser esenciales o no esenciales. En el caso de los primeros, no los puede producir el cuerpo por sí mismo, por lo que tienen que adquirirse a través de la alimentación. Son especialmente necesarias en personas que se encuentran en edad de crecimiento como niños y adolescentes y también en mujeres embarazadas, ya que hacen posible la producción de células nuevas [16].

Están presentes sobre todo en los alimentos de origen animal como la carne, el pescado, los huevos y la leche. Pero también lo están en alimentos vegetales, como la soja, las legumbres y los cereales, aunque en menor proporción. Su ingesta aporta al organismo 4 kilocalorías por cada gramo de proteína [16].

3.2 Interacción de la radiación con la materia.

Cuando las ondas electromagnéticas interactúan con un medio se ponen de manifiesto muchos fenómenos, tales como: absorción, emisión y dispersión (figura 3).

3.2.1 Dispersión:

La dispersión se divide en Mie, Raleigh y Raman.

La dispersión Mie: Es un fenómeno de dispersión que se presenta cuando la longitud de onda dispersada es aproximadamente igual al diámetro de la molécula o partícula con la que interactúa [17].

La dispersión Raleigh: Se presenta cuando la longitud de onda dispersada es mucho mayor al diámetro de la partícula o molécula con la que interactúa [17].

Dispersión Raman: Ocurre cuando la longitud de onda dispersada es igual que la incidente. También llamada dispersión inelástica donde hay un cambio en la frecuencia (energía y longitud de onda) entre el fotón incidente y el emitido. Este cambio o desplazamiento puede ocurrir de dos maneras: cuando el fotón le cede energía a la molécula, la energía de la radiación dispersada es menor que la de la radiación incidente

(dispersión Stokes); en cambio, si el fotón obtiene energía de la molécula se observa lo contrario (dispersión anti-Stokes). El desplazamiento en la frecuencia corresponde a energías vibracionales, rotacionales o de transiciones electrónicas de la molécula [17].

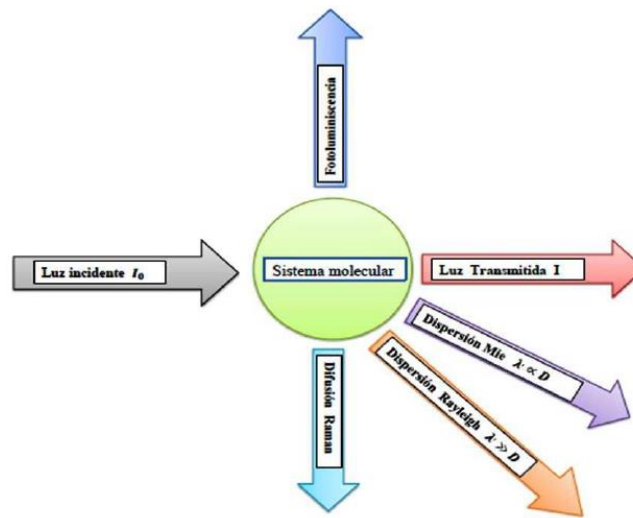


Figura 3: Fenómenos que ocurren de la interacción de la radiación con la materia [18].

3.2.2 Absorción

La materia puede capturar la radiación electromagnética y convertir la energía de un fotón en energía interna. Este proceso se denomina 'absorción' [17].

La absorción de la luz por una molécula provoca la excitación de un electrón, y el electrón se mueve desde un estado fundamental a un estado excitado. Cada uno de estos estados electrónicos puede contener un número de niveles de vibración. La absorción de la luz es desde el estado más bajo electrónico / vibracional a una serie de niveles de vibración en el estado excitado electrónica (Figura 4). Dado que los niveles de energía de la materia se cuantifican, será absorbida la energía en forma de luz que puede provocar transiciones de un nivel a otro [17].

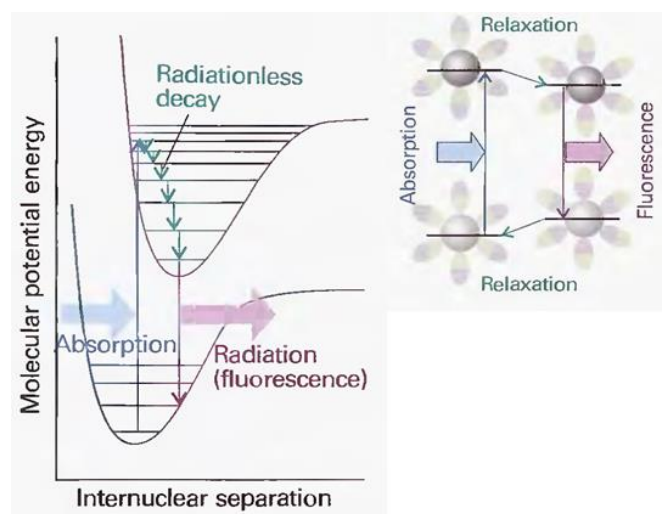


Figura 4: Absorción y Emisión [19]

La energía de absorción de fotones es $h\nu = E_1 - E_2$ (4.3.1) [17].

Aquí h es la constante de Planck y ν es la frecuencia de la radiación y E_1 y E_2 es la energía de los estados fundamentales y excitados, respectivamente. Por lo tanto, el tipo de excitación depende de la longitud de onda de la luz. Los electrones son movidos al más alto orbital por la luz ultravioleta o visible, las vibraciones son excitadas por la luz infrarroja y las rotaciones son excitadas por la radiación de microondas [17].

El espectro de absorción es característico para un elemento o compuesto en particular y no cambia con la variable concentración, por lo que el espectro de absorción es útil para identificar compuestos. La medición de la concentración de una especie absorbente en una muestra se lleva a cabo mediante la aplicación de la ley de **Beer-Lambert**, que expresa la probabilidad de que un fotón sea absorbido por una molécula, la cual se considera directamente proporcional a la concentración de las moléculas presentes y al espesor de la muestra esta ley podemos expresarla de la siguiente manera. [17].

$$A = Ln \frac{I}{I_0} = -\epsilon cl, \quad 4.3.2 \text{ [17].}$$

Donde A se llama la absorbancia o densidad óptica de la muestra. I_0 y I son las intensidades de luz que entran y salen de la muestra, respectivamente. ϵ es el índice de absorbancia molar, c es la concentración de la absorción de la molécula en la muestra, l es la longitud de la trayectoria de la luz a través de la muestra [17].

3.2.3 Emisión

La absorción de radiación visible o UV plantea molecularmente un estado excitado. Un electrón absorbe un quantum de energía y “salta” a un orbital superior de energía (figura 4). Cuando electrón cae de nuevo al estado fundamental, la energía de excitación puede ser liberada por [17].

Menor transferencia de Radiación o decaimiento no radiactivo.

Re-Emisión de radiaciones: Da lugar a la fluorescencia y / o fosforescencia (dos formas de fotoluminiscencia).

La fluorescencia ocurre en un intervalo de $10^{-9} - 10^{-7}$ seg, durante esta activa la fuente de excitación. La fosforescencia generalmente se retardara con respecto a la radiación de excitación, y puede persistir durante varios segundos después de retirar la fuente de excitación, desde $10^{-3} - 10^2$ seg [17].

3.3 Antecedentes y estado del conocimiento

El desarrollo de las investigaciones en tejidos humanos, ha tenido un avance enorme en el transcurso de los últimos años. La emisión de la piel asociada a niveles de AGEs, ha sido reportada por muchos estudios. La determinación de esta emisión (figura 5), representa el cambio de intensidad de fluorescencia en la piel, al ser medidos en personas que presentan problemas asociados con altas concentraciones de glucosa, comparados con personas las cuales sus niveles de glucosa son normales [5-7].

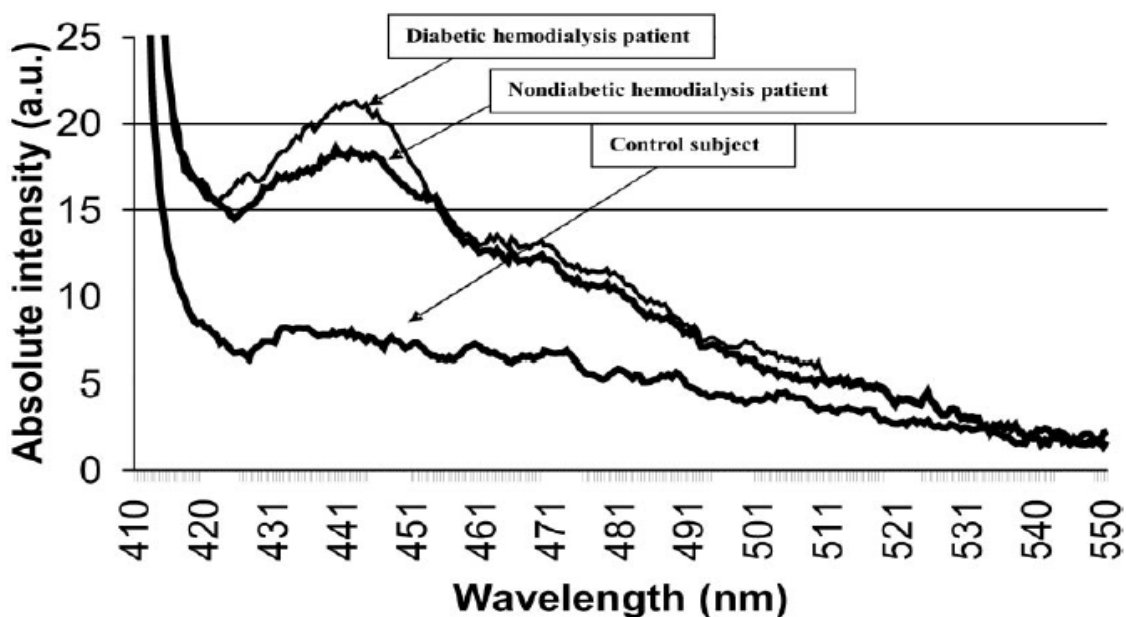


Figura 5: Espectros fluorescencia de personas con DM, enfermedad RC y control [6].

La emisión de los AGEs se da a través de la fluorescencia del colágeno cruzado, fenómeno que ha sido determinado en otros estudios [5-7]. Los cuales han sido publicados en varias revistas, estas mediciones por el momento han tenido mayor relevancia en personas caucásicas [6]. Estudios realizados demuestran que en personas diabéticas la auto-fluorescencia de la piel es mayor en un 30% [6].

Otros estudios que confirman lo anterior son los realizados por M. Koetsier, et al. Donde miden colágeno cruzado a 440nm, en personas con diabetes Mellitus e insuficiencia renal (figura 6) [7].

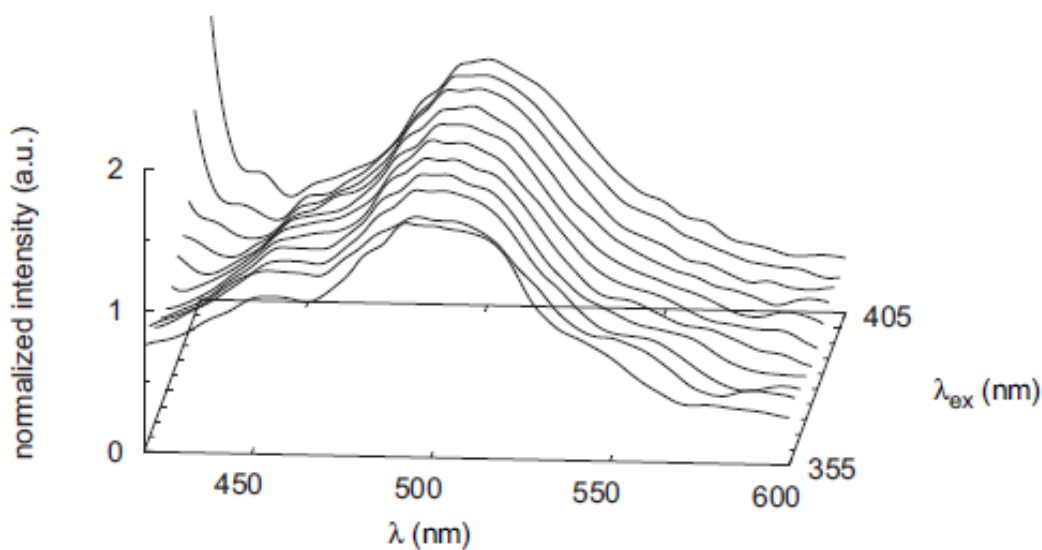


Figura 6: Espectros normalizados y excitados en una banda de 355-405nm [7].

Un antecedente importante es la factibilidad de obtener tales medidas, estudio que a pesar de no analizar los compuestos AGEs, brinda la certeza de poder obtener estos espectros para la piel en diferentes partes del cuerpo y con distintas fuentes de excitación (figura 7) [20].

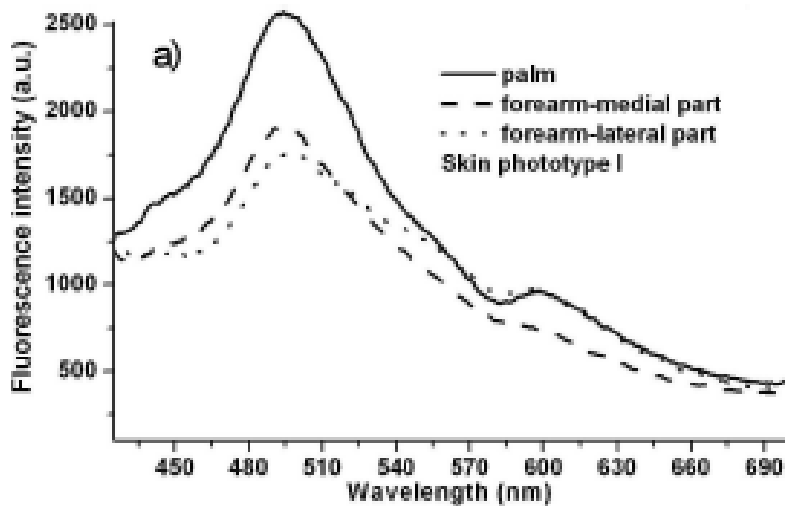


Figura 7: Emisión de la piel, obtenida en diferentes partes del cuerpo [20].

Estudios también han encontrado la emisión de la piel al ser excitada con luz a diferentes longitudes de onda (figura 8), en la cual el espectro se comporta de manera diferente atribuyéndolo al aumento de penetración en la piel lo cual implica aparición de nuevos fluoróforos [20,21].

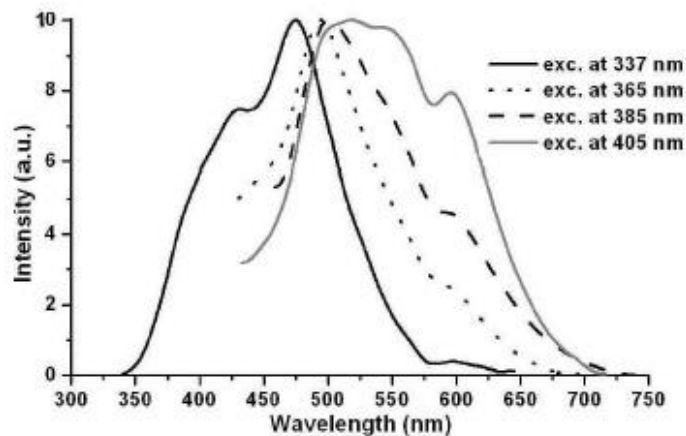


Figura 8: Emisión de la piel con diferentes fuentes de excitación [20].

Estudios realizados en El Salvador, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, por el Grupo de Investigación **GI-Rudamas**, demuestran que los niveles de AGEs, están directamente relacionados con la fluorescencia de la piel. Donde la medición de (AGEs), sirve como un indicador de la presencia de diabetes y como consecuencia ERC, (figura 9 y 10) [22].

En la figura 9. Se muestra un espectro con sus máximos señalados, que significa que esos son los máximos de emisión de los fluoróforos, donde el colágeno cruzado es un claro indicador de AGEs, y si existen altos niveles de estos, nos encontramos con la

presencia de glucosa que nos indican que una persona es diabética y por ende puede padecer de renal crónica [22].

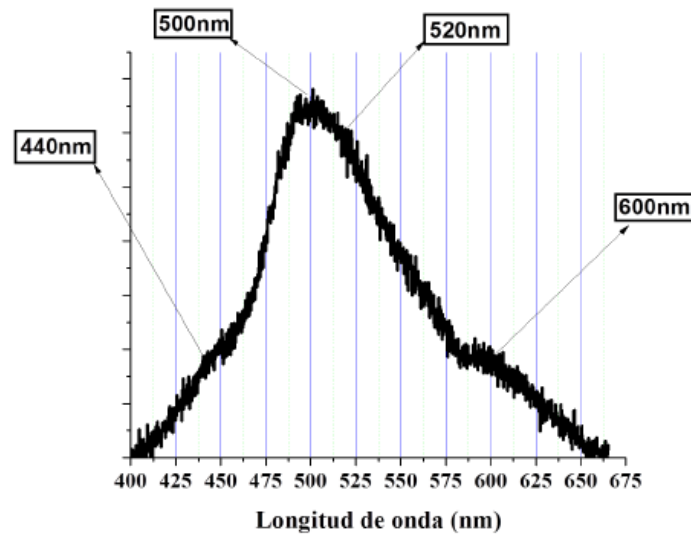


Figura 9: Resultados obtenidos en el laboratorio de espectroscopia, GI-Rudamas [22].

También se han realizado medidas en diferentes partes del brazo, para saber cuál parte es más sensible, donde los resultados indican que el dedo pulgar tiene mayor sensibilidad (figura 10) [22].

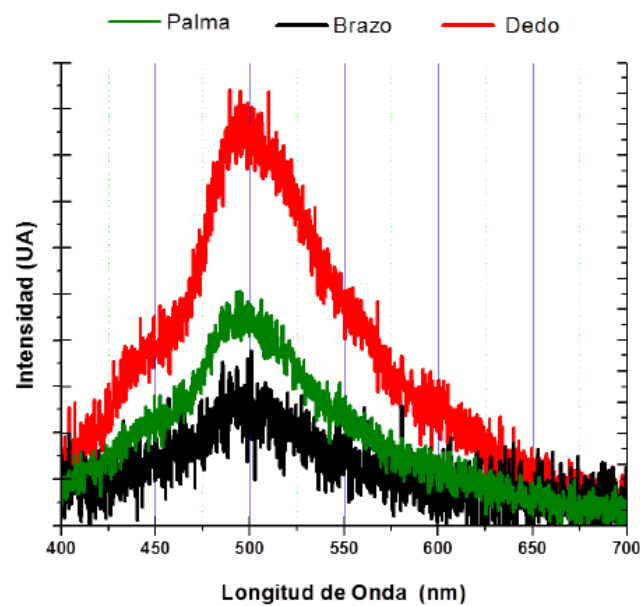


Figura 10: Medidas de fluorescencia obtenidas de diferentes partes del antebrazo [22].

La figura 9 y 10. Son resultados obtenidos en el laboratorio de espectroscopia GI-Rudamas, donde se muestran las longitudes de onda de emisión de los diferentes máximos y mediciones en diferentes partes del cuerpo.

X. Yue et al. Estudio a 534 mujeres y 457 hombres sin enfermedades conocidas 178 de ellos consumían tabaco, midió autofluorescencia en piel en cara anterior del antebrazo, que está directamente relacionada con la edad. Los consumidores de tabaco con más de 20 cajetas por año, presentan niveles de AGEs significativamente más altos que el resto (2010) [23].

Stirban et al. Estudio a 10 sujetos sanos 11 sujetos diabéticos, midió autofluorescencia en la piel en ayuno, 2 y 4 horas postprandial (pos ingesta determinación de hiperglucemia), aumentando significativamente la autofluorescencia de la piel, 2 horas postprandial en pacientes sanos y diabéticos (2007-2008) [24].

Otros estudios como el de J. Uribarri et al, “**Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet**” Cuantifican los AGEs en los alimentos, donde la temperatura y el tiempo de cocción son factores importantes para la generación de estos, también muestra una guía de alimentos con sus cantidades de AGEs, y la forma de disminuirlos en una dieta más ejercicios [2].

Lievano-Contreras y Chapman Novakofski, “**Dietary Advanced Glycation End Products and Aging**” analizo los efectos de los AGEs dietarios, de diferentes estudios y sus efectos en el organismo, más la relación que estos tienen con las diferentes enfermedades y la edad, fuentes de producción de estos endógena y exógena, formación de estos en los alimentos tomando en cuenta el proceso de manipulación, temperatura y tiempo de cocción [3].

4. METODOLOGÍA

En la metodología comenzaremos describiendo la población en estudio, cuantificación de medidas realizadas, experimentos de fotoluminiscencia en piel, montaje, equipo construido, proceso para la toma de espectros y descripción de materiales utilizados.

4.1 Población en estudio.

Esta investigación se llevó a cabo en conjunto con el Dr. William Andrés Hoyos Arango y su grupo de tesis. El Dr. Hoyos es docente e investigador de la Universidad "Dr. José Matías Delgado". Hoyos y sus tesis identificaron el grupo a estudiar y les solicitaron firmar el consentimiento informado.

La población estudiada es un grupo de 50 personas, asistentes al programa de salud integrable de la clínica de la iglesia inmaculada concepción, en el Municipio de Santa Tecla departamento de San Salvador El Salvador. Las edades de estas personas oscilan entre los 48 a 86 años y la mayoría tiene algún tipo de enfermedad, como diabetes, obesidad, hipertensión arterial y artritis reumática.

Se realizaron medidas de fotoluminiscencia de piel (AGEs) y medidas antropométricas como peso, talla, circunferencia abdominal, índice de masa corporal (peso en kg/altura² medida en cm) y presión arterial. Además de pruebas bioquímicas en estado de ayuno para la cuantificación de glucosa, colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad) y triglicéridos. Las medidas antropométricas y bioquímicas se llevaron a cabo por el grupo de tesis del Dr. Hoyos.

Se realizó una primera medida de fotoluminiscencia antes de la dieta para tomar como referencia esos primeros datos, en seguida se les dejó una dieta para evaluar cómo cambiaban los niveles de fotoluminiscencia a 440nm (AGEs) debido a la disminución en el consumo de alimentos con altos contenidos de grasas.

A continuación se muestra una tabla con las medidas realizadas de PL440nm (AGEs)

Medidas de PL440nm (AGEs)	
Fecha de medición	Medidas realizadas (espectros)
04/09/2015	35
25/09/2015	13
09/10/2015	18
06/11/2015	19
13/11/2015	22
Total	107

Tabla 1: Cantidad de medidas realizadas de PL440nm (AGEs)

También analizamos un grupo de estudiantes de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad de El Salvador, realizándoles medidas de fotoluminiscencia, pero en esta ocasión sin una dieta alimenticia, midiendo una cantidad de 20 estudiantes, con una duración de 12 semanas, entre los meses de febrero y abril del año 2016, esto para comparar el efecto de una dieta en un grupo y no tenerla en otro.

4.2 Experimentos de fotoluminiscencia en piel.

4.2.1 Montaje para medir fluorescencia en piel.

El montaje experimental lo definimos después de muchas pruebas realizadas en el laboratorio (figura 11), con el objeto de medir mejor la luminiscencia u obtener la mejor señal. Para ellos utilizamos algunos materiales y equipos como: fuente de excitación (lámpara de mercurio con una línea espectral en 365nm), una lente biconvexa de longitud focal 5 centímetros, dos lentes plano-convexas con longitud focal 15 centímetros, dos filtros, una fibra óptica y un espectrógrafo.

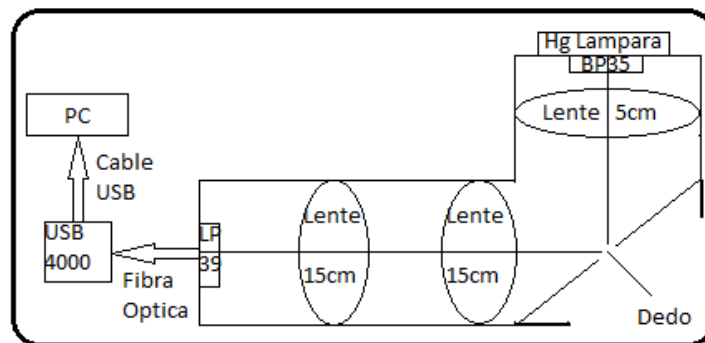


Figura 11: Se muestra el esquema para medir fluorescencia piel.

4.2.2 Equipo utilizado para medir fluorescencia de piel.

Después de haber definido el montaje experimental, continuamos con el equipo construido, fue realizado artesanalmente con la compra de madera cortada con las dimensiones a apropiadas (figura 12). El equipo consiste en una caja en forma de "L", en la parte más corta tiene un pequeño agujero y en la parte de afuera se coloca la fuente de excitación, por dentro lleva un filtro pasa banda BP35. A 10cm se encuentra una lente de 5cm de longitud focal, a 5cm una lámina rectangular con un agujero donde incide la luz enfocada por la lente, ahí se colocara la muestra (dedo pulgar), en la parte más larga a 15 y 20cm se encuentran dos lentes cóncavas planas, una de ella se encarga de coleccionar la fotoluminiscencia y conducirla a la otra en forma paralela, y esta otra la enfoca en un pequeño agujero, donde se encuentra un filtro paso alto LP39 y por afuera se encuentra conectada una fibra óptica, que conduce la señal al espectrógrafo y finalmente este la lleva a la computadora.



Figura 12: Equipo para medir fluorescencia de piel.

4.2.3 Proceso para la toma de espectros de fluorescencia de piel.

El proceso de medición se realizó en un cuarto a oscuras, se hace pasar al paciente, se limpia el dedo pulgar con alcohol, luego tomamos su dedo y lo colocamos en el agujero, esto para asegurarnos que las personas coloquen adecuadamente el dedo poniendo la misma área y con la misma presión.

Se necesita tener un área del cuerpo el cual no sufra de irregularidades como cicatrices o demasiados vasos capilares [22]. Un primer paso importante para la toma de datos, es restar la corriente oscura que se puede presentar en la CCD de nuestro espectrógrafo para que no contribuya a la medida. Posteriormente procedemos a coleccionar nuestra fotoluminiscencia [25].

4.3 Equipo y materiales utilizados.

4.3.1 Espectrógrafo USB4000-FL-395.

El espectrógrafo USB4000-FL-395nm de la marca Ocean Optics con un arreglo Czerny-Turner cruzado. Resolución de 10 nm, Rango 200 - 1100 nm, Angulo Blaze 500 nm.

Este instrumento nos permite coleccionar la emisión de luz de manera análoga y transformarla a digital, representándolo como un espectro en la computadora lo cual es de gran ayuda para realizar diferentes análisis, la sensibilidad del detector y a eficiencia de la rejilla de difracción son mostrados en la figura 14 [26]

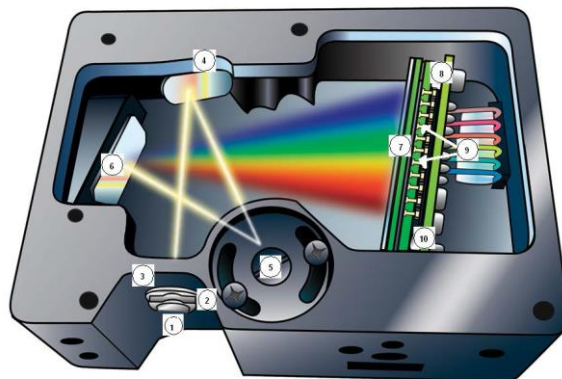


Figura 13: Estructura interna del espectrógrafo USB4000 y el recorrido de la luz [26]

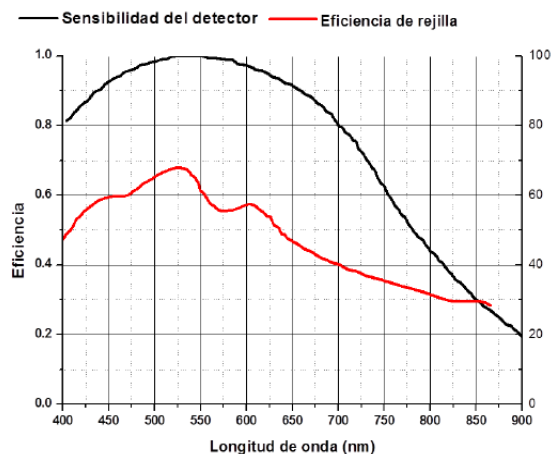


Figura 14: eficiencia de rejilla del espectrógrafo USB4000 [26]

4.3.2 Fuente de excitación

Como fuente de excitación utilizaremos la lámpara de mercurio (ver figura 15) ya que esta posee una línea espectral en 365nm entre otras, con la cual nosotros queremos excitar la piel.

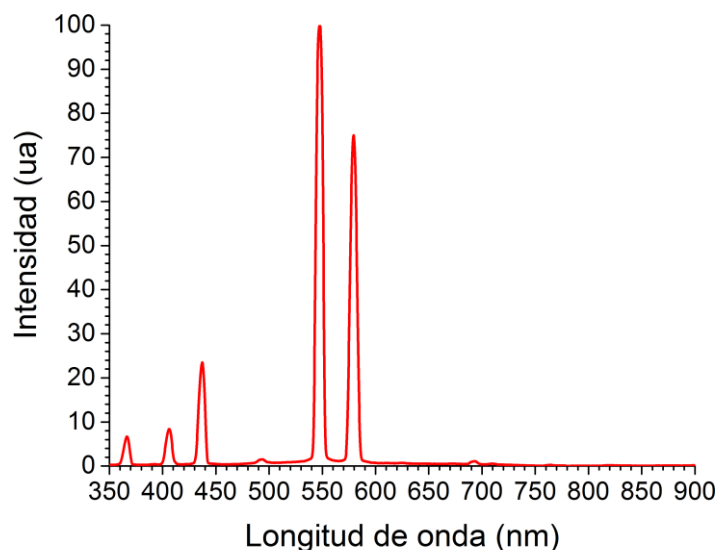


Figura 15: Espectro lámpara de mercurio (Laboratorio de Espectroscopia Óptica) [27]

En la figura 16 se muestra un gráfico de la intensidad del máximo de excitación de la lámpara de mercurio en función del tiempo, donde se puede observar una inestabilidad desde los 5 hasta los 20 minutos, presentando una mayor estabilidad a partir de los 25 minutos en adelante. Esto es de tomarlo muy en cuenta a la hora de medir fluorescencia de piel o simplemente usar la lámpara para otro tipo de medida.

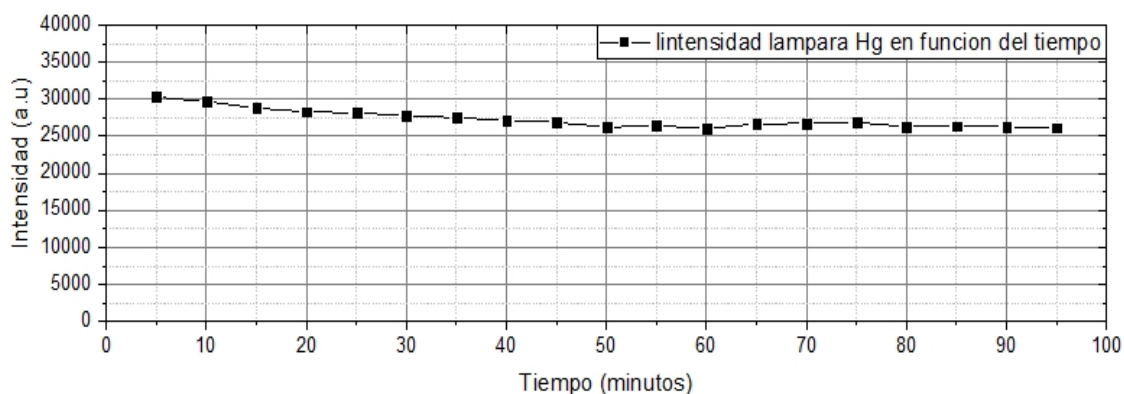


Figura 16: intensidad del máximo de excitación de la fuente en función del tiempo.

4.3.3 Filtros pasa banda y paso alto

El filtro pasa banda (BP35) será utilizado para seleccionar la línea espectral de excitación de la lámpara de mercurio y el paso alto (LP39) para no saturar el espectrógrafo y coleccionar la fotoluminiscencia (ver figura 16) [28].

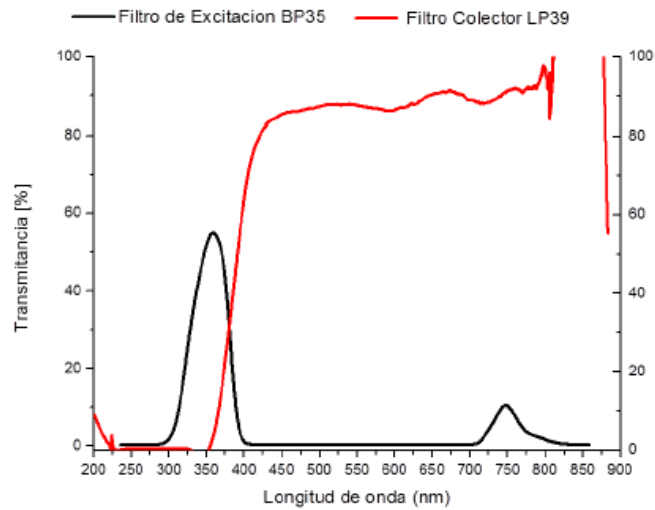


Figura 17: Transmitancia de filtros [28]

4.3.4 Fibra óptica

La fibra óptica nos permite coleccionar la luz y llevarla al espectrógrafo por la calidad que poseen de tener una reflexión total, posee un diámetro de 400 micras, un rango de 300-1100nm, con una transmisión del 83% en el rango de 350-900nm [26,29]

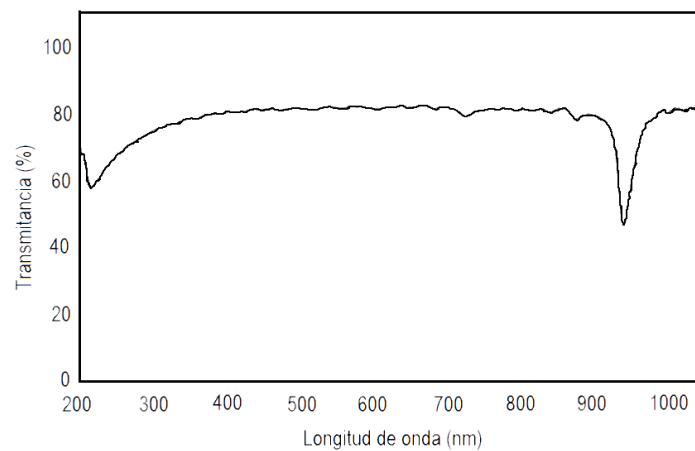


Figura 18: Espectro de transmisión de la fibra utilizada [25].

También usamos lentes para enfocar el área de excitación, una computadora y programas como Spectra Suite y Origen.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la sección de resultados y discusión, mostremos los espectros obtenidos y su comparación con los de otros estudios, analizaremos sus bandas de emisión encontradas a partir de una deconvolución gaussiana y a que compuesto se atribuyen según bibliografía consultada. También analizaremos la fotoluminiscencia de los AGEs a 440nm de las personas con dieta y sin dieta alimenticia.

5.1 Espectros obtenidos.

Uno de los primeros resultados obtenidos es la forma de los espectros (figura 19), que al compararlos con los de otros autores excitados a la misma longitud de onda son muy parecidos.

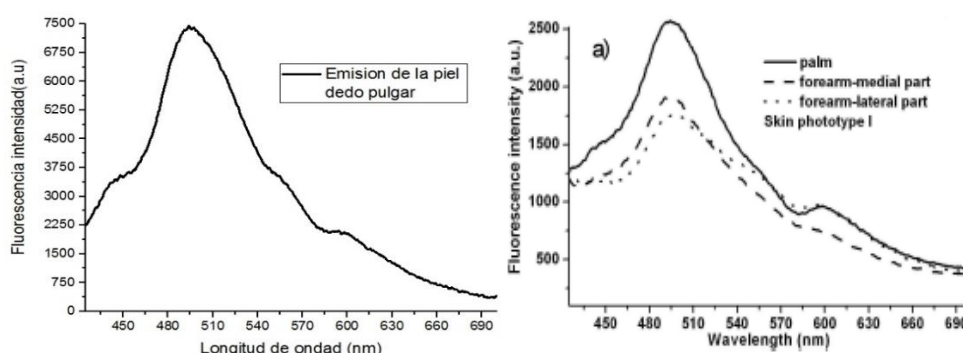


Figura 19: El primer espectro nuestro, segundo de Bulgaria, excitados a 365nm [10].

El primer espectro (izquierda) muestra los resultados obtenidos en nuestra investigación, el cual fue medido en el dedo pulgar, el segundo espectro (derecha) es medido por Bliznakova et al. En diferentes partes; palma, antebrazo medio y lateral, para el fototipo de piel I [20].

Otro estudio con el que podemos comparar nuestros resultados (figura 20) es el medido por M. Koetsier, et al. Donde muestran la fluorescencia de la piel encontrando un máximo a 440nm atribuido al colágeno cruzado que es un claro indicador los AGEs en personas con Diabetes Mellitus y enfermedad renal crónica [7].

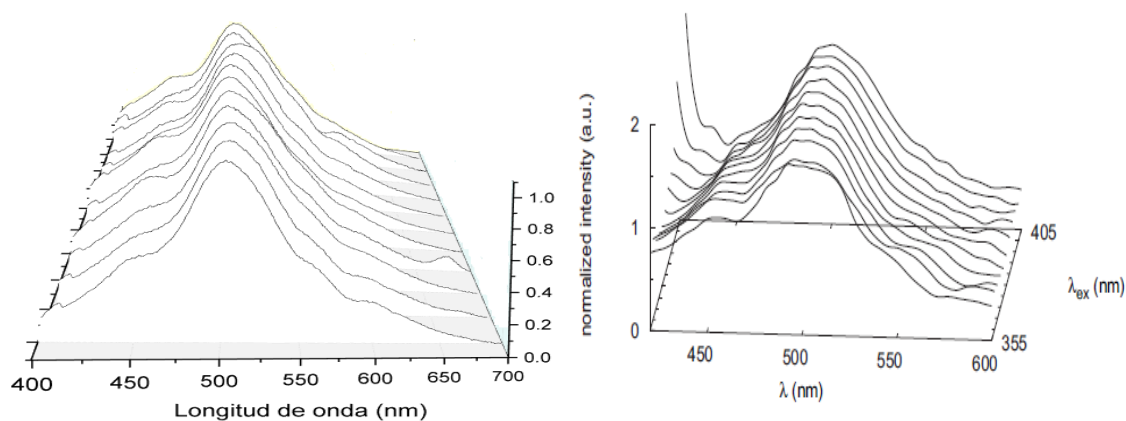


Figura 20: Espectros nuestras y otros medidas en Groningen, países bajos Holanda [7].

En la figura anterior se muestran dos espectros, el primer (izquierda) es un espectro nuestro excitado con un máximo de 365nm y el segundo (derecha) por M. Koetsier, excitado con un máximo 370nm. Aunque son distintos máximos de excitación los espectros son muy parecidos, esto nos hace que sean comparables [7].

5.2 Análisis de los espectros obtenidos.

En la sección anterior se han comparado los espectros de fluorescencia de piel con los obtenidos por otros autores. Para obtener más información de estos, tomamos un espectro de los antes mencionados, para determinar cuáles son los compuestos que están asociados a las bandas de emisión. Para ello identificamos 5 máximos que son evidenciados en el espectro de fluorescencia de piel (figura 21), donde señalamos de manera más directa los máximos a los que nos estamos refiriendo.

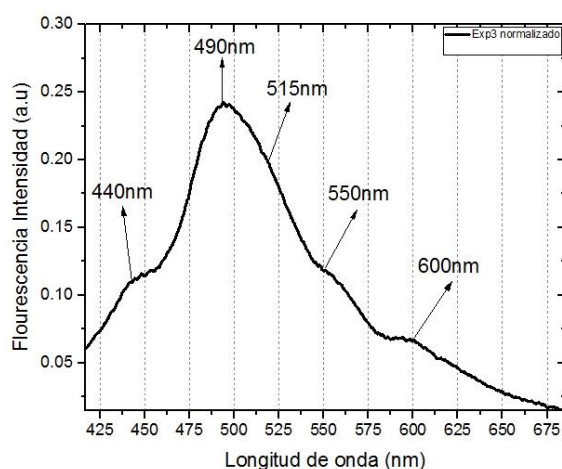


Figura 21: Espectro de nuestros resultados con los diferentes máximos asociados.

El análisis de los espectros lo realizamos mediante un método de deconvolucion gaussiana, (figura 22) este permite descomponer un espectro y determinar las contribuciones de los diferentes compuestos o fluoróforos que contiene la piel humana, que conforman el espectro total.

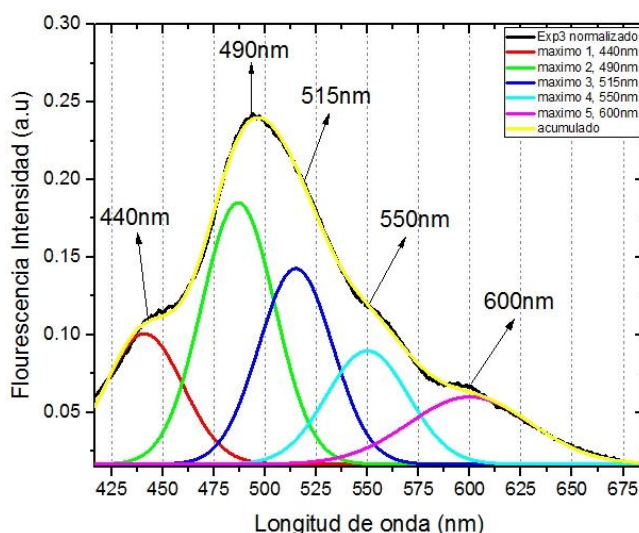


Figura 22: En figura se muestra un espectro con sus máximos deconvolucionados.

En la figura 22 se muestra un espectro deconvolucionado, el de color negro es el medido experimental, la primera banda (rojo) pertenece al máximo de 440nm, el segundo (verde claro) al máximo de 490nm, el tercero (azul) al máximo de 515nm, el cuarto (celeste) al máximo de 550nm y el quinto (rosado) al máximo de 600nm, el espectro amarillo corresponde al espectro simulado, que en este caso sería la suma de todas las bandas mencionadas y que tiene que coincidir con el medido experimentalmente, para decir que tenemos una buena deconvolucion.

En la tabla 2, se muestra los resultados de la deconvolucion de las bandas atribuidas a los diferentes compuestos, cabe mencionar que el r^2 obtenido de esta deconvolucion nos da un valor igual a 0.99; esto implica una correlación muy buena entre el espectro medido y nuestro espectro simulado o deconvolucionado.

Bandas de emisión	Área	Centro	Anchura	Altura
Banda 1 con un máximo en 440nm	3.98229	440	44.4742	0.08412
Banda 2 con un máximo en 490nm	7.57674	490	42.24341	0.1685
Banda 3 con un máximo en 515nm	5.68856	515	42.37927	0.1261
Banda 4 con un máximo en 550nm	3.66216	550	47.10277	0.07304
Banda 5 con un máximo en 600nm	3.24854	600	70.42889	0.04333

Tabla 2: Datos más importantes del espectro deconvolucionado.

Posterior a la deconvolucion es necesario determinar a qué compuesto se atribuyen las bandas mostradas en el espectro.

La banda de emisión de la piel, se origina por la emisión de los diferentes componentes de la piel, mismos que han sido publicados y referidos en otras publicaciones [20, 21, 30, 31,32]. La tabla 3 muestra algunos fluoróforos cutáneos que son de importancia para esta investigación. Al ajustar la banda de emisión que se obtiene de la piel, se determinan 5 bandas de fluorescencia, mostradas en la figura 22.

Componente	Máxima λ_{exc} (nm)	Máxima λ_{em} (nm)
Colágeno	320-350	400-440
Elastina	290-325	340, 400
Colágeno cruzado	380-420	440-500
Elastina cruzada	320-360,400	480-520
NADH	290, 350-370	440-460
FAD, flavinas	450	500-540
Lipofuscina	340-390	430-460, 540
Ceroides	340-395	430-460, 540

Tabla 3: Principales fluoróforos cutáneos [10]

Las bandas que aparecen en este espectro se centran en 440 nm, 490 nm, 515 nm, 550nm y 600 nm, y en función de los componentes listados en la tabla 3, se asocian a los enlaces cruzados de colágeno (banda centrada en 440 nm), a la contribución del dinucleótido de nicotidamina adenina NADH (reportada por E. Borisova et al. y por N. Ramanujam) [20,21] y de los enlaces cruzados de elastina (banda centrada en 490 nm),

a la lipofuscina y los ceroides – fosfolípidos- (banda centrada en 515 nm) y a las porfirinas (banda centrada en 600 nm). Esta última reportada por Prasad, P, N (2003).

Por otro lado N. Ramanujam, reporta en un gráfico mostrado en la figura 23, que al excitar la piel con longitudes cercanas a 365 nm, se observa la emisión del colágeno a 400-450nm, el NADH si es excitado en una banda de 350-400nm se observa una emisión en 450-500nm y el FAD excitado en una banda de 450-500nm emite en 500-550nm. Considerando además, lo reportado por E. Borisova et al. en el año 2012, en donde explícitamente presenta que el FAD y las flavinas emiten en el rango de 500 a 550 nm al ser excitadas con longitudes de onda que rondan los 450 nm, esta banda de emisión mostrada en el espectro 22, pertenece a dichos compuestos [20,21]. Masilamani et al. Reporta que al haber mayores concentraciones de flavinas, se observa un corrimiento del espectro hacia el rojo [33].

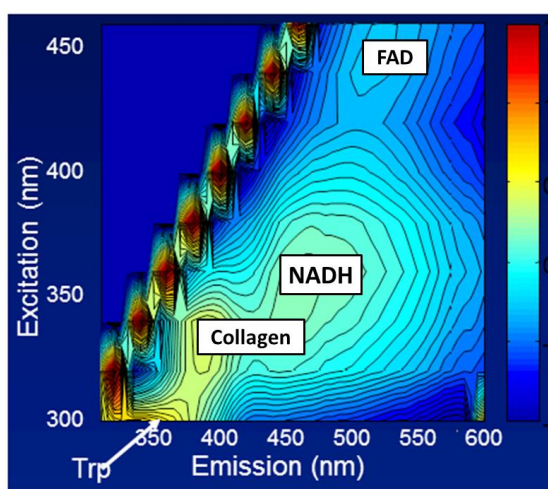


Figura 23: curva de nivel de excitación y emisión de algunos fluoróforos [23].

Según el análisis realizado de la tabla 3 y figura 23, podemos decir que los compuestos asociados a las diferentes bandas de emisión encontradas en nuestros espectros son las mostradas en la figura 24.

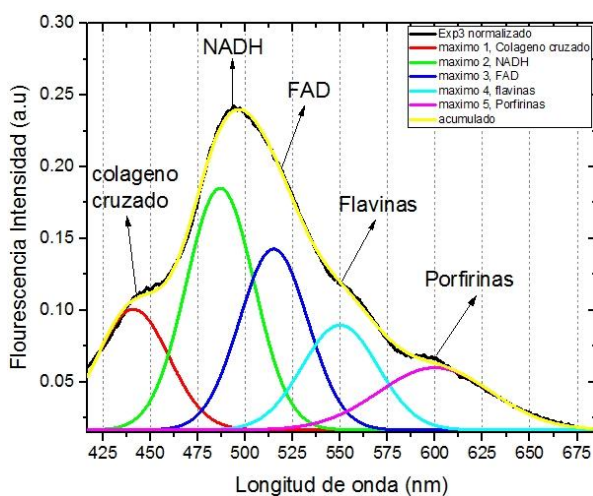


Figura 24: Espectro con los compuestos asociados a cada máximo.

Pero nuestro objetivo era poder determinar la luminiscencia del colágeno cruzado a 440nm, con la idea de establecer un marcador directo de cambios de los niveles de AGEs. Otros autores como M. Koetsier toman toda la banda de emisión de la piel asociándola a la luminiscencia de los AGEs, esto no pueden ser posible, porque existen muchos estudios que reportan que los AGEs emiten a 440nm por medio del colágeno cruzado.

5.3 Análisis de la fotoluminiscencia en el máximo de 440nm.

5.3.1 Fotoluminiscencia de personas con dieta alimenticia.

El proceso para obtener los valores de fotoluminiscencia a 440nm (AGEs) es el siguiente hacemos la corrección de las medidas por la grating ($\text{medida} \times 100 / \text{grating} = R1$) luego este resultado lo dividimos por el filtro colector ($R1 \times 100 / \text{filtroLP39} = R2$) para finalizar el segundo resultado lo multiplicamos por 100 y lo dividimos por la intensidad de la excitación a 365nm ($R2 \times 100 / \text{intensidad a 365nm}$). Para obtener todos los valores de todas las medidas o espectros a 440nm se utilizó un script, ejecutado en el programa gráfico OriginPro 2015. (La tabla de datos la puede encontrar en los anexos).

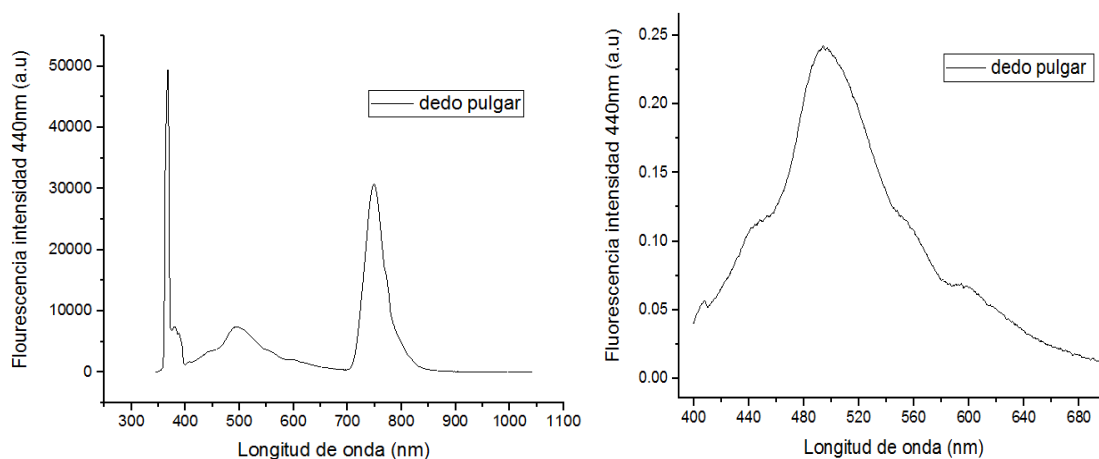


Figura 25: Espectro de la izquierda crudo sin tratar y espectro derecha normalizada.

Figura 25; Se muestran dos espectros el primer (izquierda) es un espectro crudo sin tratar el segundo (derecha) es un espectro normalizado con todos los pasos mencionados anteriormente, mostrando el área de emisión de luminiscencia en la región de 400nm-700nm.

En la figura 26 Se muestra un gráfico de caja con media y mediana indicadas dentro de la caja por un punto y una línea, sus barras de error y un par de puntos alejados de las cajas que representan datos atípicos.

También esas cajas representan las medidas realizadas por fechas de fotoluminiscencia a 440nm, donde se observa la disminución de los niveles de fotoluminiscencia de la segunda y tercera medida en relación a la primera, tomando en cuenta que en estas ya estaba en marcha la dieta y en la primera a un no. La cuarta y la quinta medida presenta un aumento con relación a la segunda y tercera pero no así comparada con la primera,

esto demuestra que si hay una disminución de los niveles de fotoluminiscencia a 440nm (AGEs) en 10 semanas debido a una dieta alimenticia o la restricción o disminución de AGEs en la ingesta.

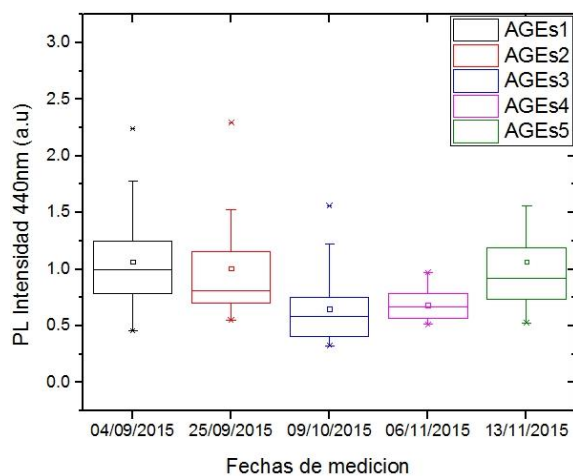


Figura 26: Se muestra un gráfico de caja de las cinco medidas realizadas.

En la figura 27 Se muestra un gráfico de pendientes de las líneas de tendencia de los gráficos realizados para cada uno de los expedientes con las diferentes medidas tomadas. La cantidad de expedientes con número diferente de medidas fueron: 7 personas o expedientes les realizamos las 5 mediciones (Exp 3, 14, 20, 27, 28, 44 y 47), a 6 personas les realizamos 4 mediciones (Exp 7, 16, 25, 30, 36 y 42), a 7 personas les realizamos 3 mediciones (Exp 2, 8, 13, 29, 32, 33 y 41), a 5 personas les realizamos 2 mediciones (Exp 17, 26, 38, 46 y 49) y 14 personas solo una medición, en total se midieron 39 personas de las cuales 24 de ellas nos proporcionaron información de los cambios de PL440nm (AGEs).

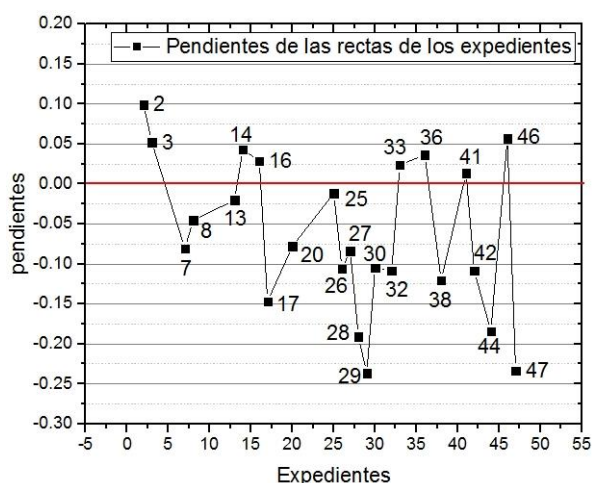


Figura 27: Se muestra un gráfico de pendientes de los expedientes.

Lo que podemos interpretar del gráfico es que todos los expedientes por encima de cero son los que aumentaron los niveles de PL440nm (AGEs) por tener pendientes positivas que son 9(36%) y los que los disminuyeron fueron 16(64%) que son la mayoría, eso nos hace concluir que la dieta fue en un 64% efectiva.

En la siguiente tabla se muestra el número de pacientes medidos, de todas las variables antropométricas y bioquímicas, porcentaje que aumento y disminuyo de cada una de estas variables.

Variables en estudio.	Aumento	No cambio	Disminuyo	Total
PL440nm (AGEs) (a. u)	9(36%)	0(0%)	16(64%)	25(100%)
Peso (kg)	6(24%)	0(0%)	19(76%)	25(100%)
IMC (kg/m ²)	4(18.8%)	0(0%)	18(81.82%)	22(100%)
CAD (cm)	3(12%)	1(4%)	21(84%)	25(100%)
PAS/PAD (mmHg)	2(8.35%)	2(8.35%)	20(83.3%)	24(100%)
Glicemia (mg/dl)	7(30.4%)	1(4.3%)	15(65.3%)	23(100%)
Colesterol HDL (mg/dl)	16(69.56%)	1(4.34%)	6(26.1%)	23(100%)
Triglicéridos (mg/dl)	5(21.7%)	0(0%)	18(78.3)	23(100%)

Tabla 4: variables estudiadas y porcentaje que subió y bajo.

Estos resultados también han sido obtenidos en otros estudios como los que mencionaremos a continuación:

Uno de los estudios que más relación tienen con nuestra investigación es el realizado por **M.H Macías Cervantes et al.** Estudio a 43 pacientes sexo masculino con sobre peso u obesidad (IMC mayor 25 kg/m²) durante 12 semanas, dividiéndolos en tres grupos aleatoriamente, **Actividad física**: Disminución de peso, IMC y circunferencia abdominal. **Dieta baja en AGEs**: Disminución de peso, IMC, circunferencia abdominal, AGEs séricos. **Dieta más actividad física**: Disminución de peso, IMC, circunferencia abdominal, TAG y AGEs séricos (2015). Este último es el que más se parece a nuestro grupo estudiado, donde disminuyeron las mismas variables que en nuestra investigación, tomando en cuenta que nosotros medimos cuatro variables más que también disminuyeron [34].

Rodríguez et al. Estudio a 47 mujeres entre 25 y 45 años con IMC entre 25 y 32 kg/m², con una dieta mediterránea (20 Kcal/kg) por un período de 12 semanas, los resultados fueron la disminución de CML, peso, IMC, perímetro abdominal, disminución de colesterol y triglicéridos (2015) [35].

Uribarri et al. Estudio a 70 hombres y 102 mujeres sanos entre 18 y 80 años, con una dieta y actividad física, en mayores de 60 años aumento significativo de CML y MG, por efectos de estrés oxidativo, los cuales persistieron a pesar de ajustar IMC y dieta (2015) [15].

Hudson et al. Estudio 1,101 pacientes de ambos sexos sin antecedentes de enfermedades. Se realizó medición de RAGEs séricos por ELISA para posterior relación con criterios de síndrome metabólico. Niveles de RAGEs hasta 120 pg/mL inferior en pacientes con mayor perímetro abdominal, HTA, e hiperglicemia en ayunas, no se encontró relación entre RAGEs y niveles de TAG y HDL (2014-2015) [36].

Mark et al. Estudio a mujeres con sobrepeso, con dieta baja en AGEs vs dieta alta en AGEs, resultados en el grupo con dieta baja, disminución de la insulina en ayunas, AGEs urinarios y menos resistencia a la insulina (2013) [37].

El análisis de las variables antropométricas y bioquímicas se llevó a cabo en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 18 y el tratamiento de los espectros, gráficos, obtención de valores de PL440nm (AGEs) por el programa gráfico OriginPro 2015.

Las variables antropométricas y bioquímicas se sometieron a la prueba de normalidad de kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilk, donde el Peso, Índice de Masa Corporal, Glicemia y Colesterol HDL pasaron la prueba de normalidad con valores de $P > 0.05$, no así las variables Circunferencia Abdominal, Presión arterial sistólica, diastólica y Triglicéridos con valores de $P < 0.05$.

Para el análisis de las variables en los gráficos solo usaremos estadística paramétrica en este caso el índice de correlación de Pearson, al finalizar haremos una comparación de la estadística paramétrica y no paramétrica Pearson y Spearman. Esto para saber qué tan diferentes son los resultados implementando estos dos índices pertenecientes a distintas estadísticas.

El número de valores o datos de PL440nm (AGEs) a correlacionar con las demás variables son 91 la media aritmética 0.90 el error típico de la media 0.047, mediana 0.78, desviación típica 0.45, el valor máximo 2.81, el valor mínimo 0.33 y rango 2.49.

La variable peso consta de 90 valores o puntos, con una media de peso 64.89, mediana 63.61, desviación típica 13.22, un máximo de 91.5, mínimo de 40.5, rango 50.86. Para la correlación con PL440nm (AGEs) conto con 83 puntos (figura 28) dando como resultado una pendiente positiva de 5.07 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.178, un P valor 0.106. El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 10.6%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.33-1.33a.u, corresponden a valores de pesos entre 52-78kg.

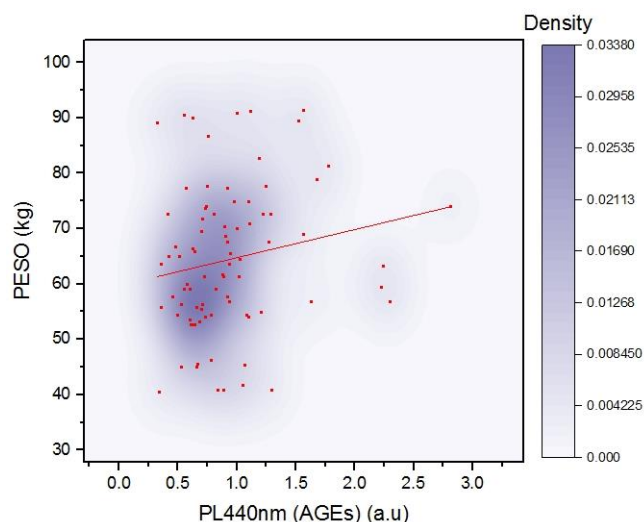


Figura 28: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs Peso.

El peso correlaciona con la PL440nm (AGEs) debido a que si consumimos más grasa y proteínas (que nos hacen aumentar de peso) estamos ingiriendo de 12 a 30 veces más contenidos de AGEs que en los otros tipos de alimentos [3].

La variable índice de masa corporal (IMC) consta de 47 valores o puntos, con una media de IMC 28.527, mediana 28.28, desviación típica 4.39, un máximo de 38.0, mínimo de 21.21, rango 16.79. Para la correlación con PL440nm (AGEs) conto con 44 puntos (figura 29) dando como resultado una pendiente positiva de 1.37 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.154, un P valor 0.319. El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 31.9%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.40-1.40a.u, corresponden a valores de IMC entre 21-32kg/m².

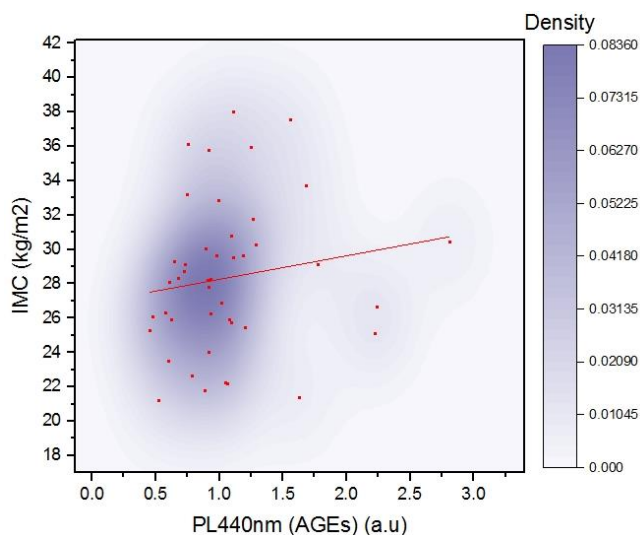


Figura 29: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs IMC.

El índice de masa corporal ($IMC = \text{Peso} / \text{altura}^2$) correlaciona con la PL440nm (AGEs) porque cuando dejamos de crecer, este solo está en función del peso, al aumentar el peso aumenta el IMC, y el peso aumenta mayoritariamente por el consumo de grasas y proteínas, más grasas y proteínas implican más AGEs.

La variable circunferencia abdominal (CAD) consta de 87 valores o puntos, con una media de CAD 92.86, mediana 96.0, desviación típica 10.47, un máximo de 120.0, mínimo de 71.0, rango 49.0.

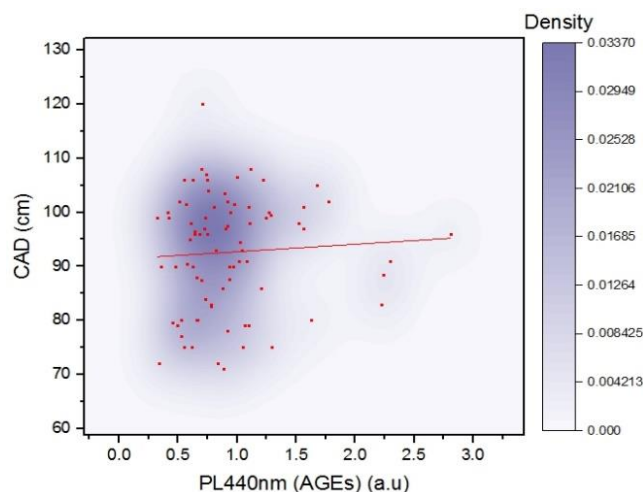


Figura 30: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs CAD.

Para la correlación con PL440nm (AGEs) conto con 80 puntos (figura 30) dando como resultado una pendiente positiva de 1.38 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.061, un P valor 0.594. El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 59.4%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.5-1.25a.u, corresponden a valores de CAD entre 72-110cm.

La CAD correlaciona con la PL440nm (AGEs), porque si aumentamos de peso también aumentamos de circunferencia abdominal, por la deposición de las grasas en el tejido. Y si hay deposición de más grasas en el tejido mayor producción de AGEs.

La variable presión arterial sistólica (PAS) consta de 77 valores o puntos, con una media de PAS 119.22, mediana 120.0, desviación típica 13.93, un máximo de 160.0, mínimo de 90.0, rango 70.0. Para la correlación con PL440nm (AGEs) conto con 69 puntos (figura 31) dando como resultado una pendiente positiva de 2.16 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.070, un P valor 0.568. El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 56.8%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.33-1.33a.u, corresponden a valores de PAS entre 100-120mmHg.

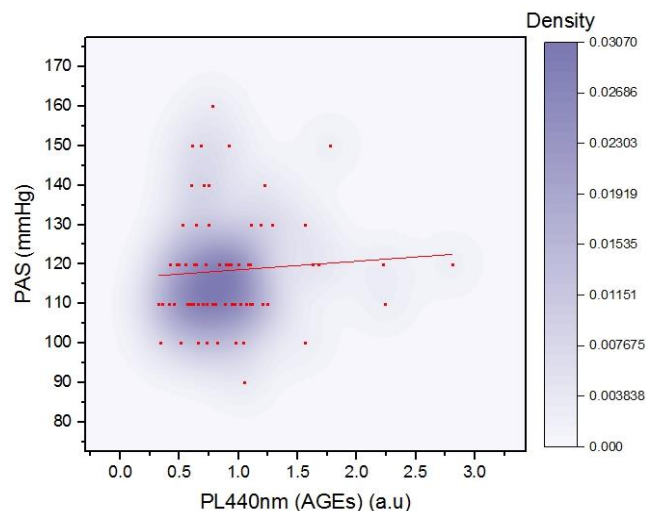


Figura 31: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs PAS.

La presión sistólica correlaciona con la PL440nm (AGEs), porque cuando los AGEs forman enlaces cruzados con las cadenas del colágeno en las paredes arteriales, estas se endurecen o se ponen rígidas, debido a esto se ve afectada la presión aumentando.

La variable presión arterial diastólica (PAD) consta de 77 valores o puntos, con una media de PAD 75.84, mediana 70.0, desviación típica 8.637, un máximo de 100.0, mínimo de 60.0, rango 40.0. Para la correlación con PL440nm (AGEs) consto de 69 puntos (figura 32) dando como resultado una pendiente positiva de 0.12 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.007, un P valor 0.955. El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 95.5%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.33-1.33a.u, corresponden a valores de PAD entre 70-90mmHg.

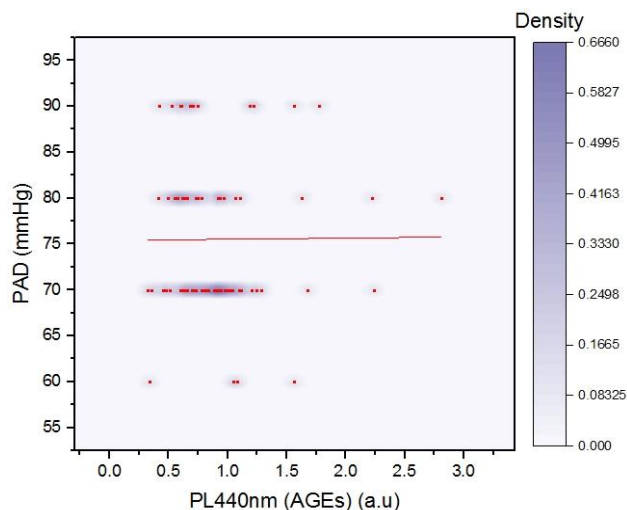


Figura 32: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs PAD.

La presión diastólica correlaciona con la PL440nm (AGEs), por la misma razón que correlaciona la presión sistólica.

La variable Glicemia consta de 46 valores o puntos, con una media de Glicemia 96.02, mediana 96.0, desviación típica 10.94, un máximo de 122.0, mínimo de 76.0, rango 46.0. Para la correlación con PL440nm (AGEs) consto de 43 puntos (figura 33) dando como resultado una pendiente positiva de 2.71 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.087, un P valor 0.589. El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 58.9%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.40-1.40a.u, corresponden a valores de Glicemia entre 80-110mg/dl.

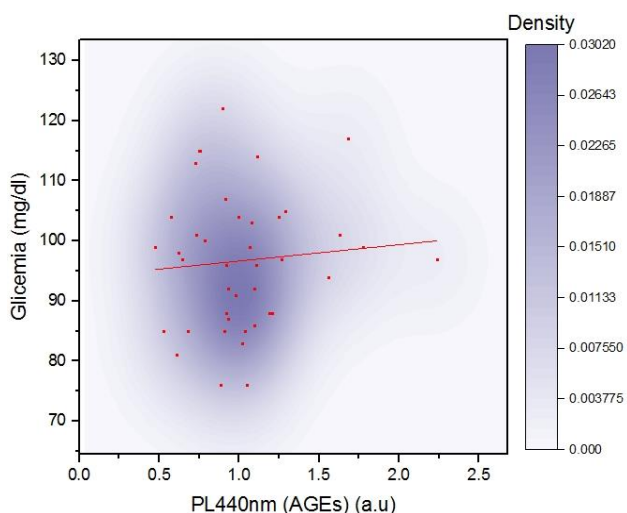


Figura 33: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs Gl.

La Glicemia correlaciona con la PL440nm (AGEs), por q es un tipo de azúcar (glucosa) y el aumento de azúcar es directamente proporcional al aumento de la formación de AGEs en el organismo.

La variable Colesterol HDL consta de 48 valores o puntos, con una media de Colesterol HDL 54.53, mediana 53.5, desviación típica 11.92, un máximo de 86.70, mínimo de

33.80, rango 52.90. Para la correlación con PL440nm (AGEs) consto de 45 puntos (figura 34) dando como resultado una pendiente negativa de -6.078 para la línea de tendencia, un índice de Pearson -0.249, un P valor 0.098. El índice de Pearson indica una correlación negativa baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 9.8%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.5-1.40a.u, corresponden a valores de Colesterol HDL entre 40-70mg/dl.

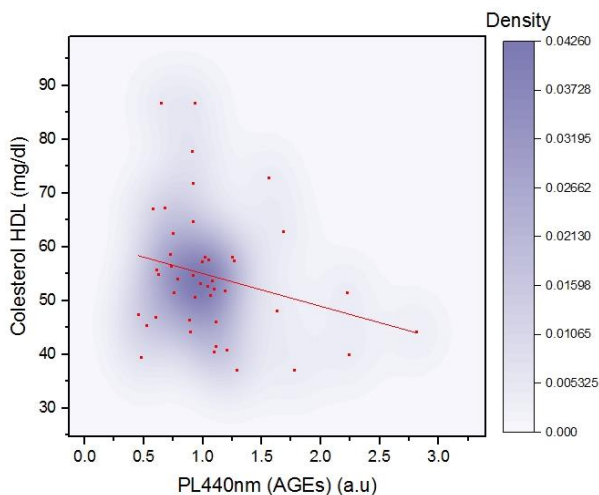


Figura 34: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs HDL.

El colesterol HDL es la única variable que correlaciono inversamente con la PL440nm (AGEs), debido a que sus niveles siempre deben mantenerse elevados, para que la sangra fluya de la mejor manera, también llamado colesterol “bueno”, no así el colesterol LDL que hace lo contrario que es obstruir las arteriales. La suma de ambos colesterol hace el colesterol total.

La variable Triglicéridos (TG) consta de 48 valores o puntos, con una media de TG 211.04, mediana 198.0, desviación típica 91.16, un máximo de 449.0, mínimo de 70.0, rango 379. Para la correlación con PL440nm (AGEs) consto de 45 puntos (figura 35) dando como resultado una pendiente positiva de 2.599 para la línea de tendencia, un índice de Pearson 0.014, un P valor 0.928.

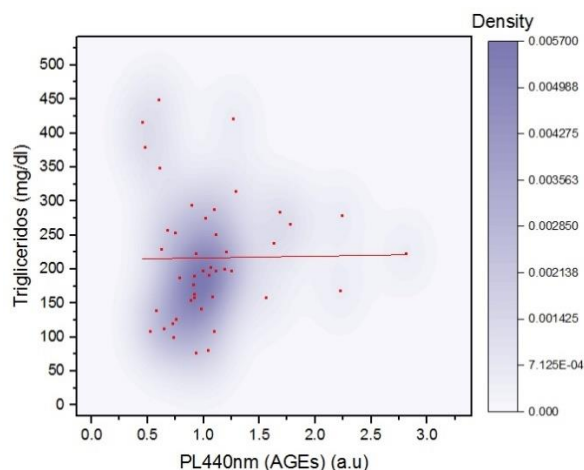


Figura 35: Se muestra un gráfico de densidad y línea de tendencia PL440nm vs TG.

El índice de Pearson indica una correlación positiva muy baja y el p valor la aceptación de la correlación con una probabilidad del 92.8%. La región con mayor densidad de puntos nos indican que para valores de PL440nm entre un rango de 0.5-1.25a.u, corresponden a valores de TG entre 75-300mg/dl.

Los triglicéridos correlacionan con la PL440nm (AGEs), porque están relacionados con la acumulación de grasas y proteínas en los tejidos adiposos en forma de triglicéridos, a mayor cantidad de grasas acumuladas mayor cantidad de AGEs.

Análisis de las pendientes, índices y p-valor obtenidos de las de las correlaciones entre PL440nm y variables antropométricas y bioquímicas.

En la figura 36 se muestran las pendientes de las líneas de tendencia obtenidas de los gráficos entre PL440nm y las variables antropométricas (VA) y bioquímicas (VB), donde se puede observar que de las ocho variables en estudio siete de ellas tienen pendientes positivas y una negativa. De todas las variables la que mayor pendiente positiva tiene es el Peso y la que mayor pendiente negativa tiene es el colesterol HDL, en general podemos decir que la mayoría de las variables tienen pendientes positivas.

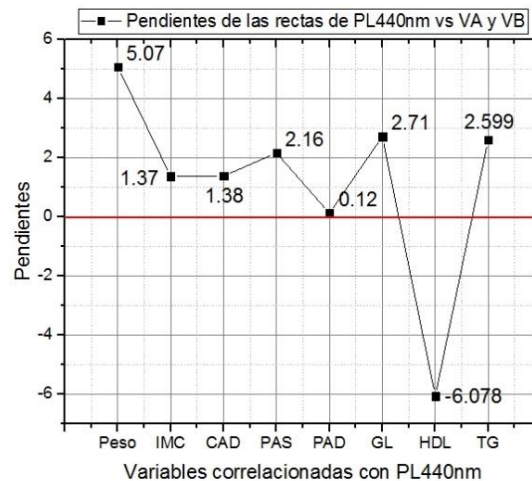


Figura 36: Pendientes de las variables correlacionadas con PL440nm.

En la figura 37 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman de la correlación entre PL440nm con las variables antropométricas y bioquímicas.

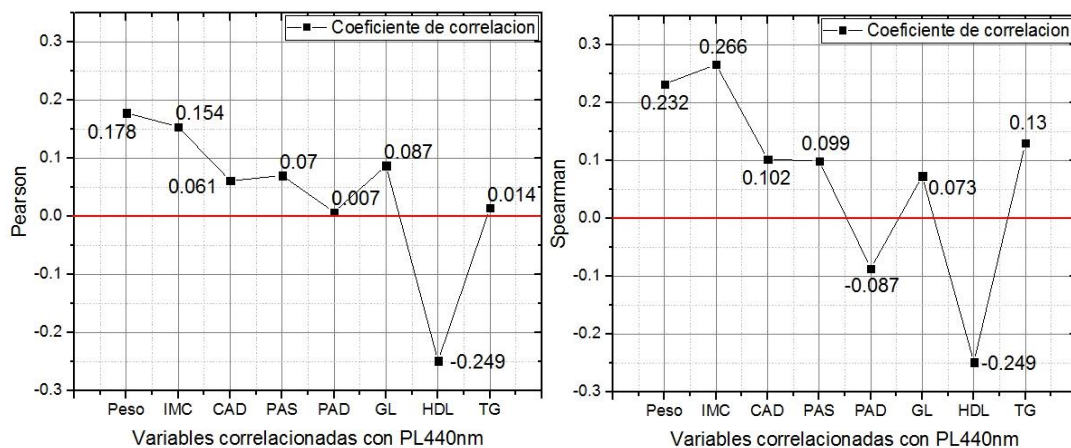


Figura 37: Coeficientes de correlación de Pearson y Spearman.

Los coeficientes significan lo mismo, el grado de correlación o asociación entre dos variables definidos desde -1 a 1, las variables con mejor correlación positiva (correlación directa) son el Peso, imc y la de mejor correlación negativa (correlación inversa) es el Colesterol HDL, esto en ambos índices. En general podemos decir que la mayoría de las variables correlacionan significativamente y positivamente con PL440nm en ambos casos o con ambos índices.

En la figura 38 se muestra dos gráficos el primero (izquierda) es la significancia estadística o p-valor obtenido de la correlación de Pearson (correlación paramétrica) y el segundo (derecho) es la significancia estadística o p-valor obtenido de la correlación de Spearman (correlación no paramétrica). La significancia estadística o p-valor en ambos casos indican o significan lo mismo la aceptación de la correlación para $P > 0.05$, (altamente significativa) o la no aceptación para $P \leq 0.05$ (significativa) de la correlación y la probabilidad de que un valor de Pearson o Spearman vuelva a repetirse realizando el mismo estudio a la misma muestra de la misma población.

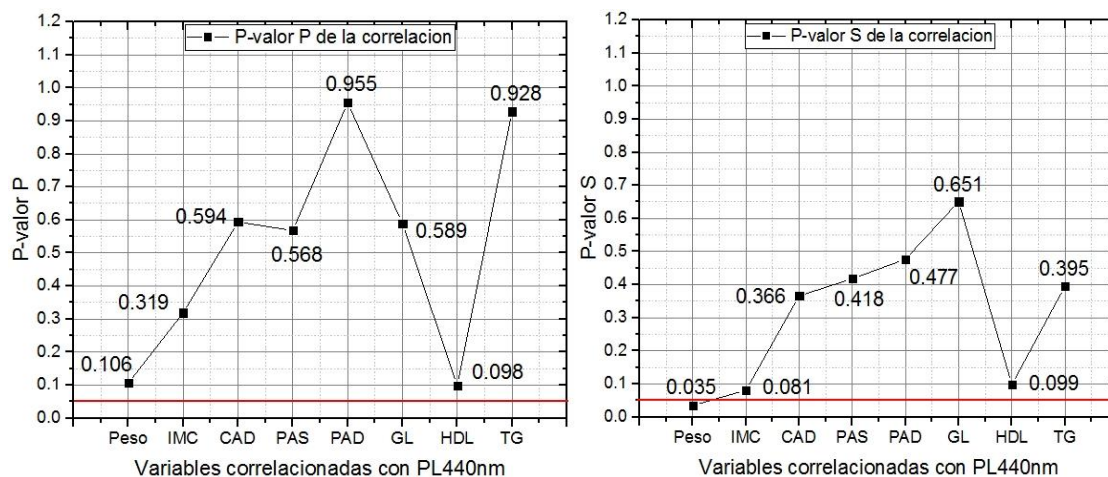


Figura 38: Significancia estadística o P-valor de las correlaciones.

El objetivo de colocar los dos gráficos de los índices de correlación juntos (Pearson y Spearman) y los dos de significancia estadística o p-valor (p-valor P y p-valor S) es para elegir los mejores resultados de una prueba paramétrica (Pearson) y una no paramétrica (Spearman) según estas pruebas.

Nº valores	Correlaciones	Pearson	P-valor p	Spearman	P-valor S
83	PL440nm vs Peso	0.178	0.106	0.232	0.035
44	PL440nm vs IMC	0.154	0.319	0.266	0.081
80	PL440nm vs CAD	0.061	0.594	0.102	0.366
69	PL440nm vs PAS	0.070	0.568	0.099	0.418
69	PL440nm vs PAD	0.007	0.955	-0.087	0.477
43	PL440nm vs GL	0.087	0.589	0.073	0.651
45	PL440nm vs HDL	-0.249	0.098	-0.249	0.099
45	PL440nm vs TG	0.014	0.928	0.130	0.395

Tabla 5: se muestran valores de Pearson y Spearman y sus p-valor

Los valores sombreados en la tabla 5 son los que se recomienda tomar según estadística paramétrica (Pearson) y no paramétrica (Spearman) para el análisis de las correlaciones.

PL440nm en función de la edad.

Para poder llevar acabo el grafico 39 se utilizó 29 expedientes y sus correspondientes valores de PL440nm y edades. Donde los resultados obtenidos fueron una pendiente 0.0011 de la linea de tendencia, Pearson 0.03568 y p-valor de 0.8542. Podemos decir que los niveles de PL440nm aumentan significativamente con la edad por tener una pendiente positiva.

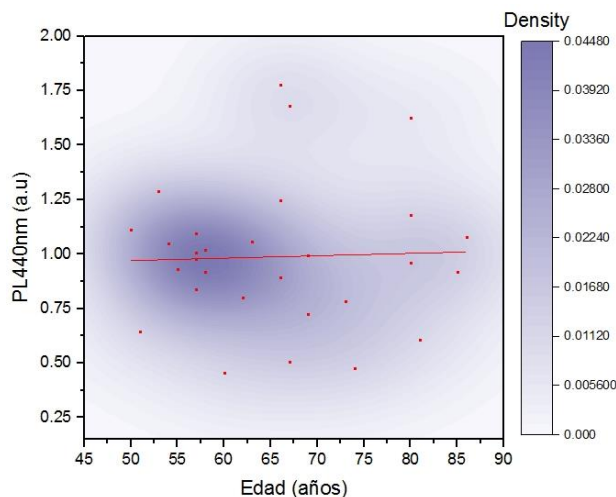


Figura 39: Se muestra PL440nm en función de la edad de los pacientes.

5.3.2 Fotoluminiscencia de personas sin dieta alimenticia.

El número de personas sin dieta al inicio fueron 20, pero no todos terminaron realizándose todas las medidas, así que de esas solo tomamos 10, durante 12 semanas. Esta variable PL440nm de personas sin dieta, conto con 124 datos para graficar, con una media PL440nm de 0.8662 con desviación típica 0.40575, un valor máximo 1.86, un mínimo 0.10 y rango 1.76.

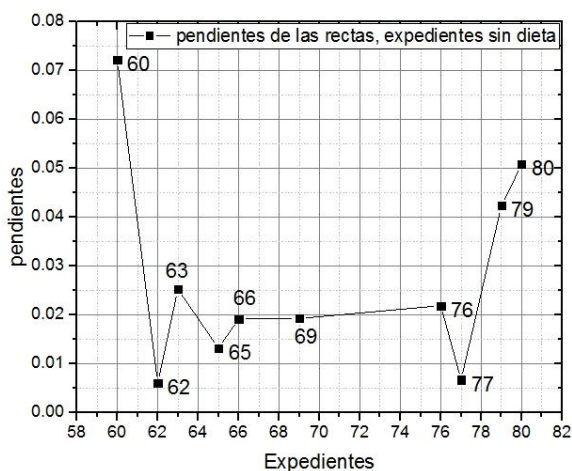


Figura 40: pendientes de las linea de tendencia de los expedientes sin dieta.

En la gráfica 40 se muestran las pendientes de las rectas que se obtuvieron de cada grafica de cada expediente por individual con todas las medidas correspondientes en diferentes fechas. Lo que podemos observar que todas las pendientes son positivas eso

implica que los niveles de PL440nm aumentan cuando no se restringen en una dieta o realizando ejercicios.

Un elemento importante que podemos destacar en la estadística de los datos de las personas con dieta y sin dieta es que la media de las personas con dieta es de 0.90 u.a y sin dieta es 0.86 u.a, el máximo valor de las personas con dieta es 2.81 y sin dieta es 1.86, el mínimo de las personas con dieta es 0.33 y sin dieta es 0.10, nos damos cuenta que los datos estadísticos siempre son mayores en las personas con dieta que sin dieta, que en realidad tendría que ser lo contrario, esto se puede justificar por qué las personas con dieta son personas mayores, sus edades están entre 48-86 años y que por su edad suelen apoderarse muchas enfermedades y los niveles de PL440nm (AGEs) aumentan con la edad y con las enfermedades. Distinto en las personas sin dieta que son jóvenes de 20-35años y todos “gozan de buena salud”.

6. CONCLUSIONES.

- Los espectros obtenidos en nuestra investigación son muy parecidos a los de otros autores como los de Bulgaria, obtenidos por E. Borisova, et al y Groningen Holanda, obtenidos por M. Koetsier, et al.
- Hemos logrado encontrar en todas nuestras mediciones un máximo en 440nm, que es atribuido al colágeno cruzado, claro indicador de AGEs, y otros máximos 495nm, atribuido al NADH, 515nm atribuido al FAD, 550nm atribuido a las flavinas y 600nm a las porfirinas.
- Al menos 25 expedientes con dos, tres, cuatro y cinco mediciones, nos indican que si hay cambios en los niveles de PL440nm (AGEs) durante una dieta alimenticia, 9 de ellos constituyendo el 36% nos indican que los AGEs subieron y 16 de ellos constituyendo el 64% nos indican que los AGEs disminuyeron esto es más del 50%.
- También disminuyeron las variables antropométricas como; el Peso (76%), IMC (81.82%), Circunferencia Abdominal (84%) y la Presión Arterial Sistólica/Diastólica (83.3%). Así mismo las variables bioquímicas como; Glicemia (65.3%), Triglicéridos (78.3%), el colesterol HDL solo disminuyo en un (26.1%).
- Los resultados entre PL440nm y variables antropométricas y bioquímicas nos generaron en la mayoría pendientes positivas y correlaciones significativas y positivas.
- La edad correlaciona positivamente con los valores de PL440nm.
- Los niveles de PL440nm (AGEs) de las personas sin dieta, son menores que las personas con dieta, por el simple hecho de tener menos años y de estar más saludables.
- Los resultados obtenidos en nuestro estudio con una dieta son comparables a otros estudios realizados por otros autores como el de M.H Macías Cervantes et al, Rodríguez et al y Uribarri et al.
- La medición de PL440nm (AGEs) en una dieta, nos puede servir como indicador, si una persona está siguiendo una dieta adecuadamente o no y con el tiempo saber si una persona está en riesgo de padecer alguna enfermedad.
- Sea comprobado que si existe relación entre el consumo de AGEs por fuentes exógenas y los medidos por fotoluminiscencia a 440nm.
- En general podemos concluir que hemos logrado nuestros objetivos planteados en nuestro proyecto de investigación.

7. RECOMENDACIONES.

En una próxima investigación de este tipo, es recomendable planificar de mejor manera las medidas, como hacer más y con intervalos de tiempo más cortos e uniformes, que de esa manera se tenga mejor y más información de la evolución temporal del consumo de AGEs o sean más evidentes los cambios si hay aumentos o disminución.

Otra recomendación sería la construcción de un setup, más pequeño, con dos lentes nada más uno que enfoque la luz en la muestra o piel y el otro que colecte la fotoluminiscencia y la enfoque en un solo punto, para que la fibra óptica la pueda coleccionar, donde se pueda medir diferentes partes del cuerpo, como palma antebrazo dedo.

Es necesario para las próximas investigaciones, la compra de más equipo, como lámparas láseres, que exciten a distintas longitudes de onda y así poder comprobar los resultados que se muestran en los artículos o paper que se publican relacionados a este tema.

BIBLIOGRAFIA:

- [1] Ahmed, N. et al., Diabetes Research and Clinical Practice. A **67**, 3 (2005)
- [2] Jaime Uribarri et al. NIH Public Access, A **110**, 1 (2010).
- [3] Luevano-Contreras y Chapman-Novakofski. Nutrients. USA, A **2**, 1247 (2010)
- [4] Natalia M. Jara Contreras., Dr. Tesis, Universidad de Chile (2011).
- [5] Douwe J. Mulder, et al. diabetes technology & therapeutics, A **8**, 523 (2006).
- [6] R. Meerwaldt et al., J Am Soc Nephrol. Hol. A **16**, 3687 (2005)
- [7] M. Koetsier, et al. Optical Society of America, A **17**, 1 (2008).
- [8] S. Bengmark y A. Gil. Nutrición Hospitalaria, A **22**, 625 (2007).
- [9] Díaz-Flores et al. Gaceta médica de México, A **140**, 4 (2004).
- [10] Bierhaus A, et al, Cardiovascular Research, A **37**, 3 (1998).
- [11] M. N. Ediger, et al. Journal of Diabetes Science and Technology, A **3**, 776 (2009).
- [12] J. Asbun and F. J. Villarreal, Journal of the American College of Cardiology, A **47**, 693 (2006).
- [13] C. Carvajal. Medicina Legal de Costa Rica - Edición Virtual Productos finales de glicación (AGES) y la nefropatía diabética, A. **32** (1), Marzo (2015).
- [15] J. Uribarri, et al. Annals of the New York Academy of Sciences, A. **1043**, 461 (2005).
- [16] Funciones de las proteínas, [en línea]. [citado 26 de Julio de 2017]. <http://www.cuidateplus.com/alimentacion/diccionario/proteinas.html>.
- [17] Montaha Ahmad Al-Thunayan Dr. Tesis, King Saud University, (2006).
- [18] A. Pérez., Lic. Tesis, Universidad de El Salvador (2013).
- [19] W. Atkins y J. De Paula, Physical Chemistry, 9th ed. (W.H. Freeman, New York, (2010).
- [20] I. Bliznakova, E. Borisova, and L. Avramov, ACTA Phys. Pol. Ser. A **112**, 1131 (2007)
- [21] Courtesy of Nimmi Ramanujam, University of Wisconsin, Madison.
- [22] R. Canjura, Lic. Tesis, Universidad de El Salvador, (2014).
- [23] X. Yue et al. University College of Medicine, Hangzhou 310009, China. A **118** (2011)
- [24] A. Stirban et al. Diabetes technology & Therapeutics. Alem. A **10** (2008)
- [25] Demtroder W. "Laser Spectroscopy", 3ed, Springer, Berlin, Alemania (2003).
- [26] Ocean Optics, USB Optical Bench Options [en línea]. Febrero de 2011 [citado 20 de febrero de 2011]. Disponible en <http://www.oceanoptics.com/technical/detectortoshibatcd1304ap.pdf>.
- [27] D. Amanda Nerio., Lic. Tesis, Universidad de El Salvador (2017).
- [28] A. Pérez., Lic. Tesis, Universidad de El Salvador (2013).

- [29] Young Freedman, Sears Zemansky, "Física Universitaria con Física Moderna", 12ed, PEARSON EDUCACION, México, 2009.
- [30] Prasad, P.N. Introduction to Biophotonics, John Wiley & Sons, New Jersey (2003).
- [31] Diego Adrian Fabila Busto, Ing. Instituto Politécnico Nacional de México DF (2010).
- [32] Georges A. et al, Photochemistry and Photobiology, A **68**, 603 (1998).
- [33] V. Masilani, T. Vijmasi y M. Al Salhi, J. of Biomed. Opt. Diabetes 15, 057003 (2010).
- [34] M.H Macías Cervantes et al. Nutrition, Departamento de Ciencias Médicas, Universidad Guanajuato, Campus León, Guanajuato, Mexico **A 31** (2015).
- [35] Rodríguez et al. Nutr Hosp. Universidad de Chile, Santiago de Chile. A **31**(6) (2015).
- [36] Hudson et al et al. HHS Public Access. School of Medicine, University of Miami, USA. **A 63**(9): 2014.

ANEXOS

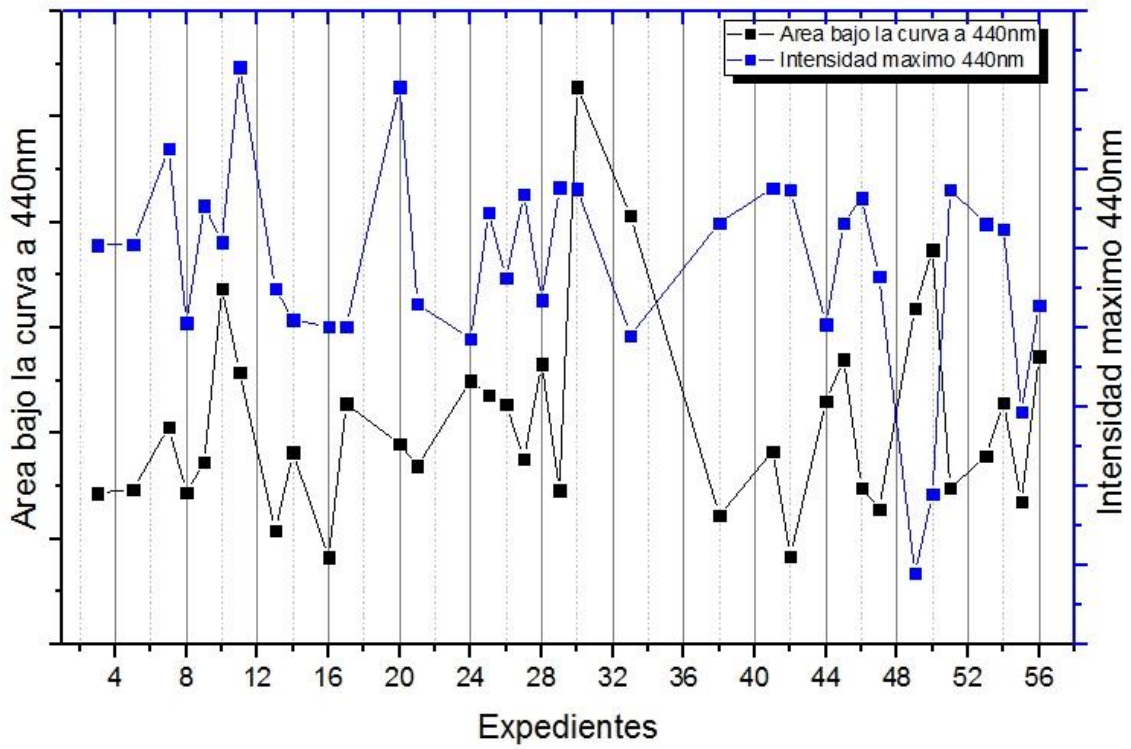


Figura 41: Comparación de área bajo la curva a 440nm e intensidad a 440nm.

En el gráfico anterior se muestran el área bajo la curva de la banda de emisión de PL440nm (AGEs) y la intensidad a 440nm de los expedientes de la primera medida.

En la tabla: Se muestran los resultados de fotoluminiscencia de la piel a 440nm a los productos finales de glicación a avanzada (AGEs).

Expedientes	04/09/2015	25/09/2015	09/10/2015	06/11/2015	13/11/2015
	a.u	a.u	a.u	a.u	a.u
#	PL440nm (AGEs) 1	PL440nm (AGEs) 2	PL440nm (AGEs) 3	PL440nm (AGEs) 4	PL440nm (AGEs) 5
02	0.65	1.52154	0.32505	--	1.55982
03	0.64299	1.02614	0.35444	0.96883	0.93234
07	0.97649	--	1.56102	0.79989	0.73137
08	1.28864	--	0.41862	--	1.10697
13	0.91731	--	--	0.68761	0.90457
14	0.78164	0.66155	0.65774	0.52805	1.06397
16	0.45522	--	0.61621	0.5126	0.59689
17	1.77634	--	--	--	1.18899
20	1.04831	1.28923	0.34112	0.83828	0.88487
25	1.07637	--	0.73171	0.77572	1.0973
26	1.09555	--	--	--	2.81056
27	0.93281	2.29646	0.65774	0.69591	1.20378
28	1.2476	0.73844	0.4079	0.56478	0.91512
29	0.89335	0.69628	0.51142	--	--
30	1.62763	0.70538	0.49287	--	0.52538
32	0.91814	0.5523	--	0.55199	--
33	2.23863	--	--	0.87737	2.22106
36	--	0.88719	0.81915	0.60231	1.03887
38	0.47621	--	--	--	0.62117
41	1.01776	--	--	0.56046	0.57597
42	0.60622	--	0.74996	0.6436	0.67865
44	1.11027	1.00078	0.54667	0.62151	0.75583
46	0.72494	--	0.3567	--	--
47	0.99454	0.7036	0.93857	0.73053	1.26509
49	1.67955	--	1.22219	--	0.74646

El proceso para obtener los valores de fotoluminiscencia a 440nm (AGEs) mostrados en la tabla anterior es el siguiente hacemos la corrección de las medidas por la grating ($\text{medida} \times 100 / \text{grating} = R1$) luego este resultado lo dividimos por el filtro colector ($R1 \times 100 / \text{filtroLP39} = R2$) para finalizar el segundo resultado lo multiplicamos por 100 y lo dividimos por la intensidad de la excitación a 365nm ($R2 \times 100 / \text{intensidad a 365nm}$), luego nos vamos a la longitud de 440nm y en la última columna encontramos el valor de PL (AGEs).

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El presente documento pretende informar sobre el tema de investigación titulado: “Fotoluminiscencia no invasiva para la detección de AGEs: Efectos del ejercicio y regulación de consumo exógeno dietético en el Síndrome Metabólico” llevado a cabo por Estudiantes de Medicina en Servicio Social de la Universidad Dr. José Matías Delgado.

Los productos de glicación avanzada son productos del metabolismo que pueden adquirirse en el consumo regular de alimentos cotidianos y los cuales predisponen a un paciente sano a desarrollar enfermedades crónicas como diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares a largo plazo, es por eso que el estudio pretende medir la cantidad de estos productos en el organismo por medio de nuevas técnicas no invasivas en piel para evaluar el riesgo de desarrollar dichas enfermedades y así poder prevenirlas mediante cambios en el estilo de vida.

Es por eso que deseamos pedir su colaboración para que se le realicen exámenes para evaluar su perfil metabólico, esto quiere decir: glicemia, colesterol HDL y triglicéridos, así como la medición de los productos de glicación avanzada en piel mediante un método llamado fotoluminiscencia que utiliza un aparato denominado espectrofotómetro, el cual será realizado por una persona experta. Al mismo tiempo se le solicitará realizar un protocolo de dieta y actividad física por un periodo no máximo a 12 semanas de duración.

Se hace énfasis en que la realización de esta técnica no produce efectos adversos no deseados en su organismo en el corto y largo plazo y los datos obtenidos serán confidenciales y de uso oficial para los miembros del comité investigador. Por lo tanto pedimos su autorización mediante su firma para participar en el estudio si usted está de acuerdo completando la siguiente hoja de datos, y se le solicita informar prontamente cualquier inquietud, inconformidad o deseo de no continuar durante el periodo de realización.

De antemano, muchas gracias por su participación
Atentamente,
Comité Investigador.

A. IDENTIFICACION DEL PACIENTE

Nombre: _____ Edad: _____

Documento de Identificación: _____

Procedimiento a realizar:

1. toma de glicemia, colesterol HDL y triglicéridos
2. medición de fotoluminiscencia no invasiva en piel
3. evaluación nutricional
4. Intervención de ejercicio aeróbico

B. DECLARACION DEL PACIENTE

Declaro que se me ha explicado detalladamente aclarando todas mis dudas e inquietudes; he comprendido el propósito del estudio, así como conozco los riesgos y complicaciones de los procedimientos a realizar los cuales son:

- Desmayo o sensación de mareo
- Sangrado y dolor del sitio de punción
- Hematoma

Por tanto, doy fe para que se realicen dichos procedimientos descritos, así como los procedimientos complementarios que fuesen necesarios o convenientes según el criterio médico del comité investigador, y deseo que se me respeten las siguientes condiciones:

_____(Si no hay condiciones escríbase: ninguna)

Firma de Paciente

Firma de Testigo

C. DECLARACIONES Y FIRMAS

1. Yo, _____ Médico(s)
responsable(s). Declaro que he informado detalladamente al paciente, aclarando
sus dudas y dando a conocer riesgos y complicaciones de los procedimientos
previamente descritos en la realización del estudio.

FIRMA: _____

DUI: _____

FECHA: _____

2. Yo, _____
Declaro que el médico me ha explicado de forma clara y concisa el propósito y
técnica de los procedimientos a realizar durante el estudio así como sus riesgos
y complicaciones, por lo que decido otorgar mi consentimiento para que el (los)
doctor (es), y el personal auxiliar que ellos consideren los realicen.

FIRMA: _____

DUI: _____

FECHA: _____