



## TESIS

### “PRODUCTOS DE GLICACIÓN AVANZADA (AGES) DIETARIOS Y SU CORRELACIÓN CON NIVELES PLASMÁTICOS”

Tesista: Dra. Natalia M. Jara Contreras

Tutor: Dra. María Pía de la Maza C.

Financiamiento: Fondecyt 1090226

Beca CONICYT para Magíster Nacional año 2010-11

Tesis para optar a grado de Magíster en Nutrición y Alimentos, Mención Nutrición Clínica  
de Adultos

Agosto 2011

# Productos De Glicación Avanzada (AGEs) Dietarios Y Su Correlación Con Niveles Plasmáticos

Natalia Jara C, María Pía de la Maza C

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile

Financiamiento: **Fondecyt 1090226, Beca Conicyt de Magíster Nacional 2010, Beca Jose Manuel Celedón auspiciada por DSM Nutritional Products.**

## RESUMEN:

**Introducción:** Los productos de glicación avanzada son un grupo numeroso y heterogéneo de moléculas que se producen en forma endógena, asociados a la hiperglicemia y estrés oxidativo. Estas sustancias además pueden generarse durante la cocción o procesamiento de los alimentos y, al ser absorbidos, alteran el metabolismo glucídico teniendo además efectos inflamatorios a nivel celular.

**Objetivos:** Confirmar si la ingesta dietaria de AGEs se correlaciona con los niveles plasmáticos de estos compuestos, determinados específicamente a través de Carboximetil-lisina (CML), uno de los AGEs más representativos, y con la respuesta inflamatoria.

**Métodos:** Se seleccionaron 3 grupos de pacientes: 40 pacientes sanos de sexo masculino, 17 diabéticos tipo 2 (DM2) de ambos sexos y 15 diabéticos tipo 1 (DM1) de ambos sexos. En cada uno se realizó una encuesta alimentaria de tendencia de consumo y recordatorio de 24 horas especialmente adaptada para cuantificar ingesta de CML, antropometría (peso, talla, circunferencia cintura y cadera), medición de presión arterial y de parámetros bioquímicos en sangre y orina (perfil lipídico, creatinemia y concentración de proteína C ultrasensible (PCRus) y Carboximetil-lisina (CML) en todos los grupos; glicemia e insulinemia basal y postcarga en grupo de sujetos sanos, HbA1c y microalbuminuria en DM1 y 2).

**Resultados:** La ingesta promedio fue de **21.945 kU/día** (14.767 – 24.650), **7.314 kU/día** (4.129 – 12.615) y **24.143 kU/día** (13.906 – 27.323) para los grupos 1, 2 y 3 respectivamente ( $p < 0,001$ ). Se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos entre los sujetos sanos y los pacientes diabéticos ( $628 \pm 112$  ng/ml vs  $684 \pm 112$  ng/ml,  $p 0,04$ ), además de una relación directa entre la ingesta de AGEs y los niveles séricos de CML en pacientes DM2 ( $r 0,53$   $p 0,03$ ). El nivel sérico de CML se relacionó en forma directa a los años de diagnóstico de diabetes mellitus, y en forma inversa con la velocidad de filtración glomerular (VFG) y el Índice de masa corporal (IMC). Uno de los factores más relevantes en el aumento de los niveles plasmáticos de CML fue el consumo de leche en polvo.

**Conclusión:** La ingesta de AGEs aumenta los niveles plasmáticos de éstos, principalmente en pacientes diabéticos. El consumo de la leche en polvo en este grupo es uno de los mayores determinantes en el aumento de los niveles plasmáticos, este aumento conlleva una serie de eventos pro-inflamatorios que producen mayor incidencia y progresión de las complicaciones diabéticas. Es importante evaluar dentro de las recomendaciones nutricionales, la disminución del consumo de AGEs, medida fácil de implementar y que tendría importantes beneficios en el control metabólico de estos pacientes.

## Introducción

Al reaccionar los azúcares o sus productos de oxidación con proteínas y ácidos nucleicos o con lípidos, se producen, luego de varios procesos químicos, moléculas heterogéneas, que en

conjunto se denominan AGEs (advanced glycation end-products) o ALEs (advanced lipoxidation end-products) respectivamente[1, 2]. Esto se produce a través de la reacción de Maillard, la cual otorga a los alimentos propiedades

organolépticas como color, sabor y aroma, muy utilizadas por la industria alimentaria[3].

Estos productos de glicación pueden ser formados en el organismo o ser incorporados a través de los alimentos o el tabaco. De manera endógena se han observado en forma de péptidos inmovilizados en tejidos, o como fracciones libres en el intracelular, siendo al parecer, la concentración de AGEs intracelulares mayor que la plasmática[4, 5]. Este proceso tendría una mayor tasa de producción en presencia de hiperglicemia y estrés oxidativo. Las moléculas modificadas por AGEs circulan entonces por todo el organismo y ejercen su acción de dos principales formas: interactuando con receptores y directamente al unirse en forma covalente a proteínas, modificando su estructura y función, como sucede en el daño glomerular en pacientes diabéticos [6, 7]. Al interactuar con receptores de superficie, principalmente en células del endotelio, monocitos y macrófagos, los AGEs son endocitados y degradados a través de AGER1[8, 9] (bloqueando la generación de radicales libres y la vía de señalización de AGEs[10, 11]). Si se unen al receptor de AGEs (RAGE, receptor de superficie) activan vías de señalización intracelular, que induce diferentes vías oxidativas e inflamatorias, con disminución del óxido nítrico endotelial e inducción del factor de transcripción nuclear NF-kB vía MAP quinasa. Esta vía conduce un aumento de la producción de citocinas, sustancias vasoactivas y factores pro inflamatorios como endotelina, PAI-1, VCAM, TNF $\alpha$  e IL6[1, 9, 12]. Se ha descrito además un receptor soluble de AGEs (sRAGE) que sería clivado de la membrana celular por enzimas proteolíticas, teniendo efectos antiinflamatorios al secuestrar AGEs y evitar su unión al RAGE [13-15].

La segunda fuente de AGEs y base de este estudio son los AGEs exógenos, que se forman en los alimentos a través de la reacción de Maillard, durante la cocción. Varios factores influyen en este fenómeno, la alta temperatura es uno de los más importantes, también la humedad, el pH, el tiempo de cocción y presencia de algunos minerales[16-19]. Es así como los alimentos con mayor contenido proteico (lisina) o lipídicos, son los más susceptibles a la formación de AGEs en presencia de calor y poca humedad. Varios autores en la última década han analizado el contenido de CML (como uno de los AGEs más importantes) en algunos alimentos, sumando a la fecha más de 500 [4, 19-21], donde se ha observado que los alimentos que contienen más

CML son los derivados animales (carnes, quesos) y los productos de pastelería.

En cuanto a su metabolismo, se ha observado que alrededor de un 10% del CML ingerido se absorbe a nivel intestinal [20], y son excretados por el riñón en diferentes formas y a distinta velocidad, específicamente el CML en un 30%. De acuerdo a lo planteado por Uribarri y cols [22] el contenido de CML plasmático aumenta significativamente luego de una carga oral de éste, mostrando un peak plasmático y urinario a las 4 – 6 hrs post ingesta; mostrando una correlación lineal entre el aumento de los niveles séricos y la concentración ingerida.

EL CML es uno de los compuestos más estudiado en la última década tanto en pacientes diabéticos, como en sujetos sanos. Se puede medir a través de test inmunológicos debido a sus propiedades antigénicas siendo utilizado como un marcador de AGEs tanto en animales como en humanos [23-25]. Niveles elevados de este compuesto se ha relacionado en diferentes estudios a disminución de la sensibilidad a insulina, aumento de factores inflamatorios y oxidantes. Es importante destacar que a pesar del teóricamente importante impacto del tabaquismo en los niveles plasmáticos de AGEs [1], estado pro inflamatorio y de alteración endotelial, sólo algunos de los trabajos revisados abordan este aspecto.

En población estadounidense se estima que el consumo promedio de CML en la dieta es aproximadamente 15.000 [24] o 16.000 [9, 26]  $\mu$ g al día y se ha establecido este valor como límite “seguro” para el consumo[19]. Es difícil establecer una cifra para considerar una dieta baja en AGEs, ya que es imposible llegar a un consumo cero, pero si se ha visto que una disminución del 60% de la ingesta de CML está asociada con disminución del estrés oxidativo, menor deterioro de la sensibilidad a la insulina y función renal relacionada a la edad en humanos, y además mayor sobrevivencia en animales [27, 28]. Modelos animales (ratones) alimentados con dietas bajas en CML han mostrado menor ganancia de peso, grasa visceral y contenido de éstos en tejidos, en cambio los alimentados con dietas ricas en CML han presentado alteraciones en el test de tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina [27, 29]. En humanos, se ha evaluado el cambio en los patrones pro inflamatorios en sujetos sanos sometidos a modificación del contenido dietario de AGEs y se ha observado que, con una dieta alta en CML, luego de un

período de intervención variable (4 horas [30], 6 días [31] 4 meses[28]), se produce una disminución significativa de la leptina plasmática [30], un aumento en las moléculas pro inflamatorias como IL6, en los marcadores de disfunción endotelial como E-selectina, ICAM-1, VCAM-1 y en los marcadores de estrés oxidativo medidos por TBARS [20-22, 24, 28, 30-33]. Todos estos efectos estarían mediados probablemente a través del receptor de membrana (RAGE) [32].

La diabetes mellitus fue una de las primeras situaciones en las que se notó la relevancia del aumento en la glicación. Aunque no hay unanimidad en cuanto a que los niveles plasmáticos sean mayores que en sujetos sanos [13, 22, 25, 34], se ha demostrado en forma constante que niveles elevados de AGEs, específicamente CML, se han asociado en humanos con niveles aumentados de moléculas proinflamatorias como VCAM-1[22], PCRus [35], E-selectina y pro-oxidantes medido como TBARS[30]. Ha sido demostrado en ratas y humanos diabéticos, que la acumulación crónica de CML en el endotelio, acelera la aterosclerosis y son predictores de microangiopatía en riñón y retina, así como macroangiopatía difusa en las arterias coronarias [14, 30, 36]. Además de la generación endógena de AGEs, estudios en pacientes diabéticos que fueron asignados a consumir dietas con distinto contenido de éstos manteniendo igual aporte de macro nutrientes, han revelado que la dieta alta en AGEs resulta en niveles plasmáticos aún más elevados de estos compuestos, particularmente CML, MG y LDL-CML, así como mayores niveles de PCR, VCAM-1, TNF- $\alpha$ , y disfunción endotelial [22, 29, 30, 37-39]. Los estudios demuestran que a medida que aumenta el contenido de AGEs en la dieta, estas complicaciones se producen más temprano en la evolución de la diabetes y además progresan más rápidamente, lo que provocaría mayor daño y muerte prematura [13, 25, 40].

El objetivo de este trabajo fue confirmar si una ingesta dietaria elevada de CML se asocia con elevación de los niveles plasmáticos de este compuesto y marcadores de inflamación (PCR ultrasensible) tanto en pacientes diabéticos como en sujetos sanos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Pacientes*

*Se seleccionaron 3 grupos de pacientes: Grupo 1 conformado por pacientes hombres, sanos con los siguientes criterios de exclusión: presencia de diabetes, insuficiencia renal crónica, insuficiencia hepática, pulmonar o cardíaca, cáncer invasor o SIDA, tabaquismo (definido como  $\geq 5$  cigarrillos /día durante 10 años) y dieta vegetariana. Grupo 2 por diabéticos tipo 2 de ambos sexos, y grupo 3 por diabéticos tipo 1 de ambos sexos. Estos pacientes tenían al menos 5 años de diagnóstico de diabetes y HbA1c menor a 9%, y cumplían con los mismos criterios de exclusión del grupo 1 excepto la presencia de diabetes.*

### *Métodos*

*Todos los pacientes aceptaron participar en el estudio firmando un consentimiento informado aprobado por el comité de ética del INTA, Universidad de Chile. A cada uno se le realizó una encuesta alimentaria de tendencia de consumo y un recordatorio de 24 horas, antropometría (peso, talla, circunferencia cintura y cadera), medición de presión arterial y de parámetros en sangre y orina (perfil lipídico, creatinemia y PCRus en todos los grupos; glicemia e insulinemia basal y postcarga en grupo de sujetos sanos, HbA1c y microalbuminuria en orina aislada en DM1 y 2). Todas las mediciones, excepto la hemoglobina glicosilada, se realizaron en muestras que se congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  el mismo día de su extracción y se analizaron una vez recolectadas todas estas. Las muestras de exámenes habituales (perfil lipídico, creatinemia, glicemia e insulinemia basal y postcarga, creatinuria y microalbuminuria) se realizaron en el Laboratorio Clínico Vida Integra. Proteína C reactiva ultrasensible se realizó con kit Elisa DRG International Inc en el laboratorio EECRAN (Envejecimiento y Enfermedades Crónicas Asociadas a Nutrición del INTA. Se estimó VFG con fórmula de Cockcroft-Gault[41]. Se calculó Índice de HOMA y Matsuda para evaluar insulino resistencia[42].*

### *Encuestas de ingesta de CML*

*Se realizó a cada paciente una encuesta de tendencia de consumo para cuantificar el consumo promedio semanal de los diferentes alimentos, además de una encuesta de recordatorio de 24 horas del día anterior a la toma de muestras.*

*La información del contenido de CML de los alimentos se basó en el listado publicado por Uribarri y cols [19]. En el grupo de pacientes DM1 se les realizó 3 recordatorios de 24 horas (2 días de semana y 1 día de fin de semana) para precisar mejor la ingesta de estos compuestos.*

### *Determinación de CML*

*CML sérico se midió con kit ELISA en laboratorio MicroCoat Biotechnologie GmbH, Bernried, Alemania.*

*Técnica de ELISA competitivo, en el cual se une CML-BSA a la superficie del pocillo, se añade la muestra y el anticuerpo específico anti CML conjugado con peroxidasa. El CML-BSA unido a la placa y el CML de la muestra compiten por el anticuerpo. El anticuerpo no unido se lava, se añade sustrato y es analizado en lector de ELISA. La intensidad del color es entonces inversamente proporcional a la concentración de CML. La variación inter ensayo fue de un  $0.57 \pm 0.49\%$  (0 – 1.95%).*

#### *Análisis estadístico*

*Los datos fueron almacenados en una planilla Excel y analizados a través del programa Stata10 para Windows. Las variables fueron analizadas a través de test paramétricos o no paramétricos según la distribución (normal o no, de acuerdo al test de Shapiro Wilks). Se utilizó estadística descriptiva y para comparar promedios o medianas entre los grupos se utilizó análisis de varianza o Kruskal Wallis respectivamente. Los resultados fueron expresados en promedio y desviación estándar si tuvieron distribución normal, o como mediana y rango si no mostraron distribución normal. Para evaluar las correlaciones entre variables se utilizó test de Pearson o Spearman. Se empleó Regresión lineal múltiple para evaluar relación entre variables.*

## RESULTADOS

La muestra fue constituida por 40 sujetos sanos de sexo masculino (grupo 1) (31 menores de 50 años y 9 mayores de 65 años), 17 pacientes diabéticos tipo 2 (grupo 2) (todos mayores de 50 años, 7 de sexo femenino) y 15 diabéticos tipo 1 (grupo 3) (todos menores de 40 años, 6 de sexo femenino). Los datos demográficos y antropométricos se presentan en la tabla 1 y 2. Las variables de laboratorio clínico se muestran en la tabla 3. El consumo étílico en los diferentes grupos fue de consideración. Si se define como mayor a 20 grs. de alcohol/día, 10 (32%) sujetos sanos menores de 50 años y 4 (15%) pacientes diabéticos tipo 1 se catalogaron como consumo problema.

#### Encuesta de ingesta de CML

La ingesta dietaria de CML según encuesta de tendencia de consumo fue de **21.945 kU/día** (14.767 – 24.650), **7.314 kU/día** (4.129 – 12.615) y **24.143 kU/día** (13.906 – 27.323) para los grupos 1, 2 y 3 respectivamente ( $p < 0,001$ ). Los mayores de 50 años presentaron una ingesta de CML significativamente inferior a los sujetos más jóvenes tanto en sanos como diabéticos (tabla 4). La ingesta de CML según los recordatorios de 24 horas resultaron significativamente menores,

8.556 kU/día (5.215 – 14.277), 3.943 kU/día (2.315 – 6.106) y 13.640 kU/día (12.094 – 18.462) respectivamente en los grupos 1, 2 y 3 con un  $p < 0.05$  entre el grupo de diabéticos tipo 1 y 2. La relación entre ambos tipos de encuesta fue de 0.51 (rho) en el grupo completo ( $p < 0.001$ ).

La correlación entre la ingesta de CML y macro nutrientes fue de 0.7 para las calorías ingeridas, 0.6 para las proteínas, 0.53 para los carbohidratos y 0.76 para los lípidos, todo con un  $p < 0.001$  según la encuesta de tendencia de consumo. Lo mismo observamos en encuesta recordatorio de 24 hrs. En cuanto a la relación con los niveles séricos hubo una correlación positiva entre los niveles de CML y la ingesta de proteínas medida como gramos/día ( $r 0,59$   $p 0,09$ ) y como gr/kg/día ( $r 0,67$   $p 0,04$ ) en los sujetos sanos mayores de 65 años. En el grupo de pacientes diabéticos tipo 2 esta relación se presentó con el consumo de lípidos ( $r 0,57$   $p 0,01$ ).

En los diabéticos tipo 1, al comparar 1 vs 3 encuestas recordatorio de 24 horas, no se observó diferencias entre la ingesta de CML (13.640 kU (12.094 – 18.462) vs 13.123 kU (10.467 – 16.553), tampoco en el consumo de macro nutrientes (calorías  $2.340 \pm 856$  cal. vs  $2.249 \pm 559$  cal., proteínas  $90.7 \pm 38$  g. vs  $90.3 \pm 19$  g., carbohidratos  $318 \pm 126$  g. vs  $304 \pm 88$  g.).

#### Niveles séricos de CML

Los niveles de CML promedio en la muestra completa fueron de  $653 \pm 115$  ng/ml (427 – 933), sin diferencias significativas entre ambos sexos. Al comparar las concentraciones por grupos, los pacientes diabéticos mostraron niveles significativamente mayores de CML comparado con los sujetos sanos ( $684 \pm 112$  ng/ml vs  $628 \pm 112$ ) ( $p 0,04$ ). Se observó una relación directa y positiva entre la ingesta de CML medido por encuesta de tendencia de consumo y los niveles plasmáticos, sólo en el grupo de pacientes diabéticos tipo 2 ( $r 0,53$   $p 0,03$ ). Esta relación no se observó al analizar los datos con la encuesta recordatorio de 24 horas (1 o 3 encuestas) en ningún grupo.

Al evaluar la duración de la enfermedad en los pacientes diabéticos, esta se relacionó directamente con los niveles séricos de CML (rho  $0,34$   $p 0,050$ ), se observó además una diferencia significativa al separar según percentil de CML (p25 vs p75, 5 años vs 12 años  $p 0.03$

respectivamente) y al analizar modelos de regresión logística, esta variable es significativa en la predicción de los niveles séricos en los pacientes diabéticos (tabla 6). No se encontró relación entre los niveles de CML y HbA1c, ni CML y actividad física.

Tanto la VFG ( $r -0,34$   $p 0,03$ ) como el IMC se correlacionó negativamente con los niveles plasmáticos de CML, esta última en todos los grupos ( $r -0,35$   $p 0,02$  en los sujetos sanos,  $\rho -0,40$   $p 0,02$  en diabéticos), además de ser significativamente menor según percentil de CML sérico ( $28,1 \pm 4,8$  en p25 vs  $25 \pm 3,1$  en p75,  $p 0,02$ ); en los modelos de regresión múltiple este factor explica la mayor parte de la variabilidad de los niveles de CML principalmente en sujetos sanos (tabla 5 y 7).

Los sujetos en p10 de nivel de CML sérico, consumen significativamente más alcohol que los que se encontraron en p90 ( $21,9 \pm 18$  vs  $5,0 \pm 5,6$  gr de alcohol promedio día;  $p 0,03$ ), esto se ve también al analizar los niveles plasmáticos según el consumo de alcohol, en los sujetos que consumen más de 50 gramos al día de alcohol tienen niveles de CML de  $586 \pm 119$  ng/ml vs los que consumen menos de 50 gramos al día que tienen niveles de  $661 \pm 111$  ng/ml ( $p 0,08$ ) Esta variable tiene mayor relevancia en los sujetos mayores de 65 años en los que según modelos de regresión explicaría por sí misma un 22% de la variabilidad de CML sérico en este grupo ( $\beta -0,48$   $p 0,02$ ). Asimismo el tabaquismo tiene clara influencia en los sujetos sanos ( $\beta 81,3$   $p 0,01$ ) al ser evaluado junto al IMC, mostrando mayor relevancia en los menores de 65 años.

En cuanto al análisis de algunos alimentos, se observó en los pacientes diabéticos, que una de las variables significativas es el consumo de leche en polvo ( $\beta 0,46$   $p 0,001$ ) al ser analizada junto a la duración de la enfermedad estas explicarían un 39% del aumento en los niveles de CML en este grupo (tabla 6). El consumo de leche en polvo se asoció significativamente con los niveles séricos de CML en el grupo completo ( $r 0,28$   $p 0,02$ ) y en el grupo de DM2 ( $\rho 0,64$ ,  $p 0,006$ ). Se observó además una asociación entre CML sérico y el consumo de carnes asadas en los mayores de 65 años ( $\rho 0,59$   $p 0,007$ ); el consumo de galletas y productos de repostería ( $\rho 0,38$   $p 0,01$ ) y de pan con queso derretido ( $\rho 0,30$   $p 0,04$ ) en los menores de 65 años.

En relación a otros alimentos en análisis de regresión vemos que el consumo de carnes asadas y fritas ( $R^2 29\%$  en sanos y  $R^2 0,23$  en

diabéticos) es determinante de la ingesta de CML en todos los grupos, pero en los diabéticos adquiere más importancia el consumo de paltas y aceitunas ( $R^2 0,36$ ), y en los diabéticos tipo 1, también adquiere relevancia el consumo de cereales.

Los valores de PCRus se muestran en la tabla 3, estos son menores en los pacientes diabéticos tipo 1 aunque sin alcanzar diferencia estadística. En los sujetos menores de 65 años, la PCR tiene una correlación positiva con la edad ( $\rho 0,38$   $p 0,008$ ). Esta variable no mostró correlación con la ingesta ni los niveles plasmáticos de CML, IMC, VFG, niveles de tabaquismo ni actividad física.

## DISCUSIÓN:

Este trabajo confirma que la ingesta dietaria de AGEs tiene relación directa con la elevación de los niveles plasmáticos de estos compuestos, medidos en este caso como CML.

Por publicaciones anteriores, se sabe que los factores que influyen en los niveles plasmáticos de AGEs son muchos, entre estos se cuentan el índice de masa corporal, velocidad de filtración glomerular, edad, consumo de alcohol, tabaquismo, hiperglicemia y la ingesta de éstos según la forma de cocción. Al escoger pacientes bien compensados (HbA1c  $7,05 \pm 0,9$  %) y sin falla renal (VFG  $116 \pm 31,7$  ml/min), se logró aislar mejor la ingesta como factor influyente en los niveles séricos.

La relación inversa entre niveles circulantes de CML e IMC ha sido descrita en diferentes trabajos, y se atribuye a que éste se deposita en la grasa y por tanto disminuye en la circulación [24, 43, 44], aunque todavía no está claro.

En cuanto a la velocidad de filtración glomerular, mientras mejor función renal, mayor clearance plasmático y por lo tanto menores niveles séricos de AGEs [25, 28]. En sujetos sanos los niveles plasmáticos se normalizan luego de 18 – 20 hrs, mientras que en pacientes con nefropatía diabética moderada esto ocurre a las 36 – 48 hrs y en los pacientes insuficientes renales esto ocurre después de las 48 horas[20], la tasa de eliminación urinaria en pacientes sanos es entonces, aproximadamente un 30% mientras que ésta cae a menos del 5% en pacientes insuficientes renales[20]. En este trabajo no se midieron niveles urinarios de CML, pero sí se encontró una asociación inversa entre la concentración sérica de CML y VFG.

La conocida relación entre hiperglicemia y AGEs

plasmáticos, fue confirmada en este estudio al detectar mayores niveles en pacientes diabéticos vs sujetos sanos ( $p$  0,04). Utilizando el mismo kit (Microcoat) se han descrito niveles sobre 800 - 1000 ng/ml en diabéticos tipo 1 y 2, con y sin complicaciones [45, 46], niveles altos en comparación con nuestro grupo de estudio, debido probablemente a que en este trabajo los pacientes se encontraban bien compensados y sin complicaciones derivadas de la diabetes (microangiopatías).

De acuerdo a los modelos de regresión múltiple, las variables predictoras de CML plasmático fueron el IMC y el nivel de alteración del metabolismo glucídico (figura 5). Esta última variable es de relevancia solo en el grupo de pacientes diabéticos. La ingesta dietaria de AGEs en este modelo no alcanzó significancia estadística; pareciera que el consumo de algunos alimentos específicos más que el consumo total de AGEs fue lo que tuvo mayor influencia en los niveles séricos de CML. Al respecto, llama muchísimo la atención la relevancia del consumo de leche en polvo, principalmente en el grupo de diabéticos. Los niveles elevados de AGEs en los productos como la leche en polvo, que contiene azúcares, lípidos y proteínas (con altos niveles de lisina), se producen al ser deshidratados a alta temperatura [47], su relevancia ha sido estudiada en animales y se ha confirmado su absorción en lactantes, mostrando que los niños alimentados con fórmula vs leche materna tienen niveles altos de CML plasmático [48, 49].

Se ha descrito en la literatura que el consumo de alcohol tendría un efecto protector en la formación de AGEs, ya que al unirse el acetaldehído a las moléculas precursoras impiden la progresión a productos avanzados de glicación [50]. En esta muestra se observó un menor nivel de CML plasmático a mayor consumo de alcohol diario, y esto fue más relevante en los mayores de 65 años, lo que podría influir entonces en los menores niveles que presentó este grupo.

Al comparar la ingesta dietaria de AGEs en esta muestra, vemos que esta es similar a la reportada en población norteamericana. Sin embargo, a diferencia de lo publicado en EEUU [24] donde los sujetos mayores no ingieren menos AGEs que los sujetos jóvenes, en esta muestra los mayores de 65 años consumieron una cantidad significativamente menor (tabla 4) debido principalmente a la forma de cocción de los alimentos que tienen como hábito los sujetos

mayores de 65 años, que incluye carnes hervidas más que fritas, a diferencia de los sujetos jóvenes en que esta relación se invierte (tabla 8). Esto podría explicar la escasa relación entre los niveles séricos y la edad encontrada en este trabajo, ya que esta puede estar influenciada en gran parte por la menor ingesta, junto a otras variables, y así “compensar” el aumento esperado por la edad y la caída secundaria de la VFG. El nivel de ingesta de más del 50% de esta muestra (26 sujetos sanos, 2 DM2 y 10 DM1) superó el límite de 15.000 kU/día, fijado como “seguro”, debido a que sobre éste aumentaría la inflamación, estrés oxidativo y el riesgo de insulino resistencia, diabetes mellitus 2, aterosclerosis y disfunción vascular [22, 33, 51].

En este trabajo, el mayor consumo alimentario se asoció a un elevación de HbA1c en los pacientes diabéticos tipo 2 ( $6,7 \pm 0,76$  vs  $8,4 \pm 0,2$ ,  $p$  0,01), sin diferencias significativas en el consumo de calorías ( $p$  0,5), carbohidratos ( $p$  0,7) ni azúcares refinados ( $p$  0,9).

Aunque no se pudo aislar completamente la ingesta como factor determinante de los niveles plasmáticos de AGEs, sí se muestran datos relevantes sobre una relación que ha sido estudiada hace más de una década. A pesar que el grupo de diabéticos tipo 1 fue el que presentó mayor ingesta y mayores niveles plasmáticos, no se encontró una relación entre estas dos variables, probablemente debido a que la ingesta según sexo es muy diferente ( $p$  0,04), asociado a un mayor consumo de alcohol ( $p$  0,004), ambas variables de mayor valor en los sujetos de sexo masculino, esta última variable influye importantemente en los niveles plasmáticos, en este grupo probablemente disminuyó los niveles en los diabéticos tipo 1 de sexo masculino, alterando la relación que presentan los niveles plasmáticos de CML con la ingesta.

En este estudio no se logró confirmar la relación de los niveles plasmáticos de CML con PCRus como marcador de inflamación probablemente porque la muestra de sujetos presentó niveles muy bajos de PCRus, y una buena compensación metabólica de la diabetes.

En cuanto a las debilidades principales del estudio, se encuentra el tamaño de la muestra, la separación en diferentes grupos según edad y patología disminuye aún más el  $n$  en los distintos análisis; como metodología la encuesta de tendencia de consumo es un método poco

acucioso a las porciones y depende mucho de la memoria del entrevistado, aunque dentro de los beneficios se encuentra el corto tiempo que demora en realizarse, lo barato del método y que no necesita entrevistadores calificados, en este sentido[52], una fortaleza es que esta encuesta fue realizada por un solo entrevistador.

Es importante destacar que aún no existe consenso en la medición de los niveles de AGEs, aunque el más cuantificado y evaluado es el CML, aún no se sabe si es éste el que presenta mayor actividad biológica, habiendo muchos compuestos descritos y muchos también que aún no se han identificado.

## CONCLUSIÓN

Al disminuir el consumo de AGEs disminuye notoriamente el nivel de inflamación, oxidación e insulino resistencia [21, 22, 30, 31, 53]. Esta medida sería fácil de implementar a nivel poblacional, y podría constituir una estrategia para ayudar a frenar la “epidemia” de enfermedades crónicas, principalmente la incidencia y progresión tanto de diabetes mellitus 2 como de sus complicaciones. La restricción de estos compuestos debería focalizarse, según este trabajo y la literatura revisada, principalmente en los pacientes diabéticos. Esto debido a que la coexistencia de hiperglicemia y disminución de la función renal (tanto en velocidad de filtración como por la presencia de glomerulopatía aunque ésta aún no sea clínica), junto al consumo de alimentos ricos en AGEs, aumentarían notablemente el pool circulante y con ello sus efectos proinflamatorios. Especialmente llamativo resultó la influencia que mostró el consumo de leche en polvo en los pacientes diabéticos, ya que reciben éste alimento en forma gratuita en los consultorios del país, acogidos al programa de alimentación complementaria del adulto mayor.

Los resultados obtenidos nos impulsan a continuar estudiando este tema con mayor número de pacientes y caracterizando específicamente los alimentos chilenos, para evaluar el nivel de ingesta e impacto de su consumo en diferentes grupos, sobre parámetros inflamatorios y demás factores de riesgo metabólico y cardiovascular. Es de suma relevancia que este tema se aborde en diferentes grupos de estudio, ya que el entender mejor su metabolismo y formas de acción, se puede manejar también sus efectos sobre la salud y eventualmente cambiar el rumbo con uno de los pocos factores que aún es modificable para ayudar

a disminuir las carga de enfermedades crónicas, principalmente la diabetes.

## REFERENCIAS

1. Singh, R., A. Barden, T. Mori, and L. Beilin, *Advanced glycation end-products: a review*. Diabetologia, 2001. **44**(2): p. 129-46.
2. Vlassara, H., *Advanced glycation in health and disease: role of the modern environment*. Ann N Y Acad Sci, 2005. **1043**: p. 452-60.
3. Bengmark, S., *Advanced glycation and lipoxidation end products--amplifiers of inflammation: the role of food*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2007. **31**(5): p. 430-40.
4. Ames, J.M., *Determination of N epsilon-(carboxymethyl)lysine in foods and related systems*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1126**: p. 20-4.
5. Somoza, V., *Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: an update*. Mol Nutr Food Res, 2005. **49**(7): p. 663-72.
6. Coughlan, M.T., A.L. Mibus, and J.M. Forbes, *Oxidative stress and advanced glycation in diabetic nephropathy*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1126**: p. 190-3.
7. Dyer, D.G., J.A. Dunn, S.R. Thorpe, K.E. Bailie, T.J. Lyons, D.R. McCance, and J.W. Baynes, *Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging*. J Clin Invest, 1993. **91**(6): p. 2463-9.
8. Kankova, K. and K. Sebekova, *Genetic variability in the RAGE gene: possible implications for nutrigenetics, nutrigenomics, and understanding the susceptibility to diabetic complications*. Mol Nutr Food Res, 2005. **49**(7): p. 700-9.
9. Xanthis, A., A. Hatzitolios, G. Koliakos, and V. Tatola, *Advanced glycosylation end products and nutrition--a possible relation with diabetic atherosclerosis and how to prevent it*. J Food Sci, 2007. **72**(8): p. R125-9.
10. Cai, W., J.C. He, L. Zhu, X. Chen, G.E. Striker, and H. Vlassara, *AGE-receptor-1 counteracts cellular oxidant stress induced by AGEs via negative regulation of p66shc-dependent FKHRL1*

- phosphorylation*. Am J Physiol Cell Physiol, 2008. **294**(1): p. C145-52.
11. Cai, W., J.C. He, L. Zhu, C. Lu, and H. Vlassara, *Advanced glycation end product (AGE) receptor 1 suppresses cell oxidant stress and activation signaling via EGF receptor*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(37): p. 13801-6.
  12. Heizmann, C.W., *The mechanism by which dietary AGEs are a risk to human health is via their interaction with RAGE: arguing against the motion*. Mol Nutr Food Res, 2007. **51**(9): p. 1116-9.
  13. Aso, Y., T. Inukai, K. Tayama, and Y. Takemura, *Serum concentrations of advanced glycation endproducts are associated with the development of atherosclerosis as well as diabetic microangiopathy in patients with type 2 diabetes*. Acta Diabetol, 2000. **37**(2): p. 87-92.
  14. Gao, X., H. Zhang, A.M. Schmidt, and C. Zhang, *AGE/RAGE produces endothelial dysfunction in coronary arterioles in type 2 diabetic mice*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008. **295**(2): p. H491-8.
  15. Uribarri, J. and K.R. Tuttle, *Advanced glycation end products and nephrotoxicity of high-protein diets*. Clin J Am Soc Nephrol, 2006. **1**(6): p. 1293-9.
  16. Miranda, I., *Actividad citotóxica y antioxidante de los productos de la reacción de Maillard de los sistemas modelo D-glucosa-glicina y D-glucosa-L-lisina*. Revista de la Sociedad Química de Perú, 2007. **73**(4): p. 215 - 225.
  17. Rossi, J., *La combinación de los azúcares con las biomoléculas o como alimentarse en forma saludable*. Medicina (Buenos Aires), 2007. **67**: p. 161 - 166.
  18. Ruiz, B., *Propiedades antioxidantes de los productos de la reacción de Maillard y su influencia en la absorción de hierro y cobre. Reacción con la capacidad quelante de metales.*, in *Unidad de nutrición animal de la estación experimental de Zaidin*. 2009, Universidad de Granada: Granada. p. 461.
  19. Uribarri, J., S. Woodruff, S. Goodman, W. Cai, X. Chen, R. Pyzik, A. Yong, G.E. Striker, and H. Vlassara, *Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet*. J Am Diet Assoc, 2010. **110**(6): p. 911-16 e12.
  20. Koschinsky, T., C.J. He, T. Mitsuhashi, R. Bucala, C. Liu, C. Buenting, K. Heitmann, and H. Vlassara, *Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(12): p. 6474-9.
  21. Uribarri, J., M. Peppas, W. Cai, T. Goldberg, M. Lu, C. He, and H. Vlassara, *Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(3): p. 728-31.
  22. Uribarri, J., A. Stirban, D. Sander, W. Cai, M. Negrean, C.E. Buenting, T. Koschinsky, and H. Vlassara, *Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects*. Diabetes Care, 2007. **30**(10): p. 2579-82.
  23. Cai, W., J.C. He, L. Zhu, X. Chen, S. Wallenstein, G.E. Striker, and H. Vlassara, *Reduced oxidant stress and extended lifespan in mice exposed to a low glycotoxin diet: association with increased AGER1 expression*. Am J Pathol, 2007. **170**(6): p. 1893-902.
  24. Uribarri, J., W. Cai, M. Peppas, S. Goodman, L. Ferrucci, G. Striker, and H. Vlassara, *Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2007. **62**(4): p. 427-33.
  25. Wautier, M.P., P. Massin, P.J. Guillausseau, M. Huijberts, B. Levy, E. Boulanger, M. Laloi-Michelin, and J.L. Wautier, *N(carboxymethyl)lysine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients*. Diabetes Metab, 2003. **29**(1): p. 44-52.
  26. Goldberg, T., W. Cai, M. Peppas, V. Dardaine, B.S. Baliga, J. Uribarri, and H. Vlassara, *Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods*. J Am Diet Assoc, 2004. **104**(8): p. 1287-91.
  27. Cai, W., J.C. He, L. Zhu, X. Chen, F. Zheng, G.E. Striker, and H. Vlassara, *Oral glycotoxins determine the effects of calorie restriction on oxidant stress, age-related diseases, and lifespan*. Am J Pathol, 2008. **173**(2): p. 327-36.

28. Vlassara, H., W. Cai, S. Goodman, R. Pyzik, A. Yong, X. Chen, L. Zhu, T. Neade, M. Beerli, J.M. Silverman, L. Ferrucci, L. Tansman, G.E. Striker, and J. Uribarri, *Protection against loss of innate defenses in adulthood by low advanced glycation end products (AGE) intake: role of the antiinflammatory AGE receptor-1*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(11): p. 4483-91.
29. Sandu, O., K. Song, W. Cai, F. Zheng, J. Uribarri, and H. Vlassara, *Insulin resistance and type 2 diabetes in high-fat-fed mice are linked to high glycotxin intake*. Diabetes, 2005. **54**(8): p. 2314-9.
30. Negrean, M., A. Stirban, B. Stratmann, T. Gawlowski, T. Horstmann, C. Gotting, K. Kleesiek, M. Mueller-Roesel, T. Koschinsky, J. Uribarri, H. Vlassara, and D. Tschoepe, *Effects of low- and high-advanced glycation endproduct meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus*. Am J Clin Nutr, 2007. **85**(5): p. 1236-43.
31. Stirban, A., M. Negrean, C. Gotting, J. Uribarri, T. Gawlowski, B. Stratmann, K. Kleesiek, T. Koschinsky, H. Vlassara, and D. Tschoepe, *Dietary advanced glycation endproducts and oxidative stress: in vivo effects on endothelial function and adipokines*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1126**: p. 276-9.
32. Tikellis, C., M.C. Thomas, B.E. Harcourt, M.T. Coughlan, J. Pete, K. Bialkowski, A. Tan, A. Bierhaus, M.E. Cooper, and J.M. Forbes, *Cardiac inflammation associated with a Western diet is mediated via activation of RAGE by AGEs*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008. **295**(2): p. E323-30.
33. Birlouez-Aragon, I., G. Saavedra, F.J. Tessier, A. Galinier, L. Ait-Ameur, F. Lacoste, C.N. Niamba, N. Alt, V. Somoza, and J.M. Lecerf, *A diet based on high-heat-treated foods promotes risk factors for diabetes mellitus and cardiovascular diseases*. Am J Clin Nutr, 2010. **91**(5): p. 1220-6.
34. Hirata, K. and K. Kubo, *Relationship between blood levels of N-carboxymethyl-lysine and pentosidine and the severity of microangiopathy in type 2 diabetes*. Endocr J, 2004. **51**(6): p. 537-44.
35. Sebekova, K., P. Boor, M. Valachovicova, P. Blazicek, V. Parrak, K. Babinska, A. Heidland, and M. Krajcovicova-Kudlackova, *Association of metabolic syndrome risk factors with selected markers of oxidative status and microinflammation in healthy omnivores and vegetarians*. Mol Nutr Food Res, 2006. **50**(9): p. 858-68.
36. Yamagishi, S., T. Matsui, S. Ueda, K. Nakamura, and T. Imaizumi, *Advanced glycation end products (AGEs) and cardiovascular disease (CVD) in diabetes*. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2007. **5**(3): p. 236-40.
37. Sebekova, K. and V. Somoza, *Dietary advanced glycation endproducts (AGEs) and their health effects--PRO*. Mol Nutr Food Res, 2007. **51**(9): p. 1079-84.
38. Miyata, T. and T. Dan, *Inhibition of advanced glycation end products (AGEs): an implicit goal in clinical medicine for the treatment of diabetic nephropathy?* Diabetes Res Clin Pract, 2008. **82 Suppl 1**: p. S25-9.
39. Yamagishi, S., T. Matsui, and K. Nakamura, *Possible link of food-derived advanced glycation end products (AGEs) to the development of diabetes*. Med Hypotheses, 2008. **71**(6): p. 876-8.
40. Barbosa, J., O.S., Tojal e Seara, L., *O papel dos produtos finais da glicacao avancada (AGEs) no desencadeamento das complicacoes vasculares do diabetes*. Arq bras endocrinol metab, 2008. **52**(6): p. 940 - 950.
41. Cockcroft, D.W. and M.H. Gault, *Prediction of creatinine clearance from serum creatinine*. Nephron, 1976. **16**(1): p. 31-41.
42. Matsuda, M., *Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2010. **20**(2): p. 79-86.
43. Semba, R.D., L. Arab, K. Sun, E.J. Nicklett, and L. Ferrucci, *Fat Mass Is Inversely Associated with Serum Carboxymethyl-Lysine, An Advanced Glycation End Product, in Adults*. J Nutr, 2011.
44. Sebekova, K., V. Somoza, M. Jarcuskova, A. Heidland, and L. Podracka, *Plasma advanced glycation end products are decreased in obese children compared with lean controls*. Int J Pediatr Obes, 2009. **4**(2): p. 112-8.

45. Boehm, B.O., S. Schilling, S. Rosinger, G.E. Lang, G.K. Lang, R. Kientsch-Engel, and P. Stahl, *Elevated serum levels of N(epsilon)-carboxymethyllysine, an advanced glycation end product, are associated with proliferative diabetic retinopathy and macular oedema*. *Diabetologia*, 2004. **47**(8): p. 1376-9.
46. Schiel, R., S. Franke, T. Appel, U. Voigt, I.S. Ross, R. Kientsch-Engel, U.A. Muller, and G. Stein, *Improvement of the quality of diabetes control and decrease in the concentrations of AGE-products in patients with type 1 and insulin-treated type 2 diabetes mellitus: results from a 10 year-prospective, population-based survey on the quality of diabetes care in Germany (JEVIN)*. *Eur J Med Res*, 2004. **9**(8): p. 391-9.
47. Ahmed, N., B. Mirshekar-Syahkal, L. Kennish, N. Karachalias, R. Babaei-Jadidi, and P.J. Thornalley, *Assay of advanced glycation endproducts in selected beverages and food by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection*. *Mol Nutr Food Res*, 2005. **49**(7): p. 691-9.
48. Mericq, V., C. Piccardo, W. Cai, X. Chen, L. Zhu, G.E. Striker, H. Vlassara, and J. Uribarri, *Maternally transmitted and food-derived glycotoxins: a factor preconditioning the young to diabetes?* *Diabetes Care*, 2010. **33**(10): p. 2232-7.
49. Sebekova, K., G. Saavedra, C. Zumpe, V. Somoza, K. Klenovicsova, and I. Birlouez-Aragon, *Plasma concentration and urinary excretion of N epsilon-(carboxymethyl)lysine in breast milk- and formula-fed infants*. *Ann N Y Acad Sci*, 2008. **1126**: p. 177-80.
50. Al-Abed, Y., T. Mitsuhashi, H. Li, J.A. Lawson, G.A. FitzGerald, H. Founds, T. Donnelly, A. Cerami, P. Ulrich, and R. Bucala, *Inhibition of advanced glycation endproduct formation by acetaldehyde: role in the cardioprotective effect of ethanol*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. **96**(5): p. 2385-90.
51. Chao, P.C., C.N. Huang, C.C. Hsu, M.C. Yin, and Y.R. Guo, *Association of dietary AGEs with circulating AGEs, glycated LDL, IL-1alpha and MCP-1 levels in type 2 diabetic patients*. *Eur J Nutr*. **49**(7): p. 429-34.
52. Martin-Moreno, J.M. and L. Gorgojo, *[Assessment of dietary intake at the population level through individual questionnaires: methodological shadows and lights]*. *Rev Esp Salud Publica*, 2007. **81**(5): p. 507-18.
53. Vlassara, H., W. Cai, J. Crandall, T. Goldberg, R. Oberstein, V. Dardaine, M. Peppas, and E.J. Rayfield, *Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. **99**(24): p. 15596-601.

## ANEXOS

**Tabla 1:** Antecedentes demográficos separados por grupo.

Variables	Grupo 1 Sujetos sanos	Grupo 2 Pacientes DM2	Grupo 3 Pacientes DM1	p
<b>n</b>	40	17	15	
<b>Sexo (F/M)</b>	0/40	7/10	6/9	
<b>Edad (años)*</b>	46 (42,2 – 49)	69 ( 64 – 70,9)	23 (20 – 25,8)	0,001
<b>Tabaquismo <sup>1</sup> (1/2/3/4) (número de pacientes)</b>	7/9/9/15	0/1/3/13	0/3/0/12	0,01
<b>Tabaquismo actual (si/no en número de pacientes (%))</b>	16/24 (40%)	1/16(6%)	3/12(20%)	0,021
<b>Actividad física <sup>2</sup> (1/2/3/4) (número de pacientes)</b>	10/9/6/15	0/0/7/10	5/3/0/7	0,002
<b>Actividad Física <sup>2</sup> (si/no en número de pacientes (%))</b>	10/30 (25%)	0/17 (0%)	5/10(33%)	0,02
<b>Años de diagnóstico de DM (años)*</b>	-	5 (5 – 6)	14 (7,5 – 16)	0,001
<b>Antecedentes de HTA (si/no en número de pacientes (%))</b>	8/32 (20%)	15/2 (88%)	1/14 (7%)	0,000
<b>Uso de medicamentos (si/no en número de pacientes)(%)</b>	11/29 (28%)	17/0 (100%)	2/13 (13%)	0,000
<b>Uso de insulina (n)</b>	0	1	15	
<b>Uso de aspirina (n)</b>	5	15	0	
<b>Uso de iECAs (n)</b>	7	12	0	
<b>Ingesta alcohol (gr semanales)</b>	123 ± 162,1	52,7 ± 106,5	110,8 ± 124,6	NS
<b>Ingesta vino (gr semanales /cc semanales)</b>	35,7 ± 72 / 261 ± 525	46,5 ± 94,8/ 332 ± 677	22,6 ± 43,3/ 162 ± 309	NS
<b>Ingesta mayor a 20 gr/día (%)</b>	28%	6%	15%	0,14

<sup>1</sup> Tabaquismo: 1: consumo mayor a 5 cig/día; 2: consumo menor a 5 cig/día; 3: tabaquismo suspendido; 4: nunca ha fumado.

<sup>2</sup> Actividad física: 1: mayor a 3 hrs a la semana; 2: entre 1 y 3 hrs a la semana; 3: menos de 1 hr a la semana; 4: no hace actividad física. - Actividad física; si: cuando este es mayor a 3 horas a la semana.

\* valores expresados como mediana e intervalos de confianza

**Tabla 2:** Mediciones antropométricas según grupo y categoría de edad.

	Sujetos sanos Grupo 1		Pacientes DM2 Grupo 2		Pacientes DM1 Grupo 3	P
<b>n</b>	31	9	5	12	15	
<b>Grupo etario</b>	Menores 50 años	Mayores 65 años	Menores 65 años	Mayores 65 años	Menores 50 años	
<b>IMC*</b>	26.6 (24,6 – 27,7)	25,1 (23,5 – 28,8)	29,2 <sup>a</sup> (25,5 – 33,6)	30,3 <sup>b</sup> (24,5 – 35,1)	23,5 <sup>ab</sup> (22,4 – 24,8)	0,002
<b>% sobre IMC normal</b>	64%	22%	100%	58%	20%	
<b>Circunferencia cintura (cm)*</b>	92,5 <sup>a</sup> (88,2 -96,7)	99 <sup>b</sup> (88,3 – 105,7)	95 <sup>c</sup> (92 – 104)	95 <sup>d</sup> (84 – 108)	81,5 <sup>abcd</sup> (77,7 – 85,8)	0,001
<b>% circ. cintura riesgo</b>	10%	33%	25%	50%	0%	
<b>Razón cintura cadera</b>	0,95 ± 0,045 <sup>d</sup> (0,85 – 1,05)	1,01 ± 0,05 <sup>ac</sup> (0,91- 1,07)	0,92 ± 0,07 <sup>b</sup> (0,83 – 1,02)	0,91 ± 0,09 <sup>ce</sup> (0,76-0,05)	0,82 ± 0,04 <sup>abcd</sup> (0,72 – 0,89)	< 0,01
<b>% índice cint. cadera riesgo</b>	16%	66%	20%	11%	0%	
<b>Presión art. sistólica</b>	125,8 ± 9,5 <sup>a</sup> (108 – 147)	146,7 ± 14,4 <sup>abc</sup> (129 – 171)	123 ± 8,2 <sup>c</sup> (110 – 130)	132,4 ± 14,4 <sup>b</sup> (110 – 155)	122,2 ± 12,3 <sup>b</sup> (99 – 143)	0,005
<b>% presión art. sistólica alterada</b>	42%	89%	20%	50%	33%	
<b>Presión art. diastólica</b>	80,4 ± 10 (56 – 101)	76,8 ± 7,4 (63 – 87)	76 ± 10,7 (65 – 88)	72,5 ± 8,4 (60 – 91)	77,1 ± 13,5 (51 – 105)	NS
<b>% presión art. diastólica alterada</b>	58%	33%	40%	17%	27%	

\* valores expresado como mediana y rango.

**Tabla 3:** Resultados de parámetros bioquímicos por grupo.

<b>Variables</b>	<b>Sujetos sanos</b>	<b>Pacientes DM2</b>	<b>Pacientes DM1</b>	<b>P</b>
<b>N</b>	40	17	15	
<b>Colesterol total (mg/dl)</b>	191,3 ± 42,8	195,4 ± 28,8	172 ± 29,5	NS
<b>Colesterol HDL (mg/dl)</b>	47,3 ± 12,7 <sup>a</sup>	42,7 ± 10,3 <sup>b</sup>	60,8 ± 13,2 <sup>ab</sup>	0,002
<b>Colesterol LDL (mg/dl)</b>	114,4 ± 37,4	114 ± 26,6	97,9 ± 23,2	NS
<b>Triglicéridos (mg/dl)*</b>	136,5 <sup>a</sup> (107 - 155)	188 <sup>b</sup> (135 - 216,8)	62 <sup>ab</sup> (53,7 - 80)	0,0001
<b>Glicemia basal (mg/dl)</b>	92 ± 8,3	142 ± 29,7	-	0.000
<b>Glicemia 120 minutos (mg/dl)</b>	132 ± 38,7 (42 - 231)	-	-	
<b>Hemoglobina glicosilada A1c (%)</b>	-	6,98 ± 0,89 (5,1 - 8,6)	7,14 ± 1,02 (5,3 - 10)	NS
<b>PCR us (mg/l)*</b>	1,86 (1,40 - 2,84)	1,93 (1,16 - 6,16)	0,67 (0,1 - 3,7)	NS
<b>Creatinina pl. (mg/dl)</b>	0,84 ± 0,12	0,82 ± 0,20	0,79 ± 0,16	NS
<b>VFG (ml/minuto)</b>	118 ± 31,4 <sup>b</sup>	95,2 ± 28 <sup>ab</sup>	138 ± 19,6 <sup>a</sup>	0,02
<b>Índice MAU/crea (mg/gr)*</b>	NS	3.4 (0 - 12,4)	0 (0 - 2,9)	NS

\* valores expresados como mediana e intervalos de confianza

**Tabla 4:** Ingesta de AGEs medido por encuesta tendencia de consumo y recordatorio de 24 horas y niveles de CML pl. por grupo y edad.

	<b>Grupo 0</b>		<b>Grupo 2</b>		<b>Grupo 1</b>	<b>P</b>
	Menores 50 años	Mayores 65 años	Menores 65 años	Mayores 65 años	Menores 40 años	
<b>CML sérico (ng/ml)</b>	616,8 ± 116,7 <sup>a</sup>	667,3 ± 91,6	676,5 ± 118,5	646,5 ± 117,4	<b>719,5 ± 102,6<sup>a</sup></b>	0,02
<b>AGE por TC* (kU/día)</b>	<b>22.644<sup>abc</sup></b> (16.549 – 28.113)	9.720 <sup>a</sup> (7.746 – 22.301)	6.399 <sup>b</sup> (2.640 – 15.808)	8.217 <sup>cd</sup> (4.087 – 12.410)	<b>24.143<sup>d</sup></b> (13.906 – 27.323)	0,000
<b>AGE por Rec. 24 hrs* (kU/día)</b>	8.556 (5.215 – 14.277)	9.223 (3.160 – 18.716)	3.436 <sup>a</sup> (488 – 10.277)	4.461 <sup>b</sup> (1.875 – 8.258)	<b>13.640<sup>ab</sup></b> (12.094 – 18.462)	0,001

\* valores expresados como mediana e intervalo de confianza

**Tabla 5:** Regresión múltiple en el grupo completo. Se evaluó índice de masa corporal (IMC), alteración del metabolismo glucídico (1 normo glucídico o HbA1c menor a 5.7% en DM2, 2 Intolerancia a la glucosa o HbA1c entre 5.7 y 6.5%, 3 DM2 en sanos, o HbA1c mayor a 6.5%), gramos de alcohol semanal, tabaquismo actual, grado de insuficiencia renal [52], ingesta de CML según encuesta tendencia de consumo y edad. En este modelo es significativo el nivel de IMC y de alteración del metabolismo glucídico, el tabaquismo no alcanza significación estadística.  $R^2$  0.31.

CML sérico	Coef.	Std. Err.	t	P> t
IMC	<b>-12.5</b>	3.633297	-3.44	0.001
Metabolismo glucídico	<b>41.0</b>	19.84742	2.07	0.043
Gr.OH semanales	-0.02	.0980539	-0.20	0.839
Tabaquismo si/no	55.5	30.62782	1.81	0.075
Grado IR	0.30	30.94401	0.01	0.992
Ingesta CML	-0.002	.0014359	-1.55	0.126
Edad	□0.55	1.048338	-0.53	0.596
_cons	882.9	111.5356	7.92	0.000

**Tabla 6:** Regresión múltiple en pacientes diabéticos. Se evaluó asociación con leche en polvo, hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c) y años de diagnóstico. En este modelo son significativas la ingesta de leche en polvo y la duración de la enfermedad, en presencia de la leche, el nivel de HbA1c pierde importancia.  $R^2$  0.41

CML	Coef.	Std. Err	t	P> t
Leche en polvo	<b>.3851473</b>	.113665	3.39	0.002
Hba1c	17.54598	17.68538	0.99	0.330
Años de diagnóstico	<b>10.36346</b>	3.25544	3.18	0.004
_cons	444.6625	125.5335	3.54	0.001

**Tabla 7:** Regresión múltiple en sujetos sanos. Se evaluó asociación con índice de masa corporal (IMC), consumo de galletas y productos de repostería y tabaquismo actual. Las variables IMC y tabaquismo fueron significativas para este grupo, el consume de galletas y productos de repostería tiene una asociación en el límite de la significación.  $R^2$  0.33.

CML	Coef.	Std. Err.	t	P> t
IMC	<b>-13.32144</b>	5.057473	-2.63	0.013
Galletas dulces	<b>.0907976</b>	.0453825	2.00	0.054
Tabaquismo si/no	<b>81.39746</b>	32.95623	2.47	0.019
_cons	831.7182	132.6173	6.27	0.000

**Tabla 8:** Consumo de alimentos según encuesta de Tendencia de Consumo en porciones, gramos o unidades semanales distribuidos según grupo y edad.

Alimentos	Grupo sujetos sanos		Grupo DM2		Grupo DM1
	Menores 50 Años	Mayores 65 años	Menores 65 años	Mayores 65 años	Menores 40 años
Frutos secos (grs)	167 ± 296	206 ± 143	9 ± 13	99 ± 204	138 ± 152
Frutas (porciones semana)	10,8 ± 8,9	15 ± 9,3	9,8 ± 3,8	7,9 ± 10	8,7 ± 6,6
Verduras (porciones semana)	8 ± 5	9,6 ± 5,2	8,4 ± 3,1	7,5 ± 2,5	15 ± 8,2
Legumbres (porciones/semana)	0,99 ± 0,7	2 ± 1,3	0,8 ± 0,44	0,88 ± 0,45	1,0 ± 0,7
Leche (ml)	606 ± 797	293 ± 624	840 ± 766	570 ± 718	1.653 ± 1.193
Quesillo (grs)	32 ± 63	161 ± 258	22 ± 34	33 ± 49	82 ± 114
Queso (grs)	163 ± 271	40 ± 46	23 ± 43	27 ± 34	129 ± 186
Pan (unidades/semana)	21 ± 11	9,7 ± 6,4	6,3 ± 7,1	9,8 ± 6,6	4,8 ± 4,4
Pan tostado (U/sem)	0,9 ± 2,2	3,5 ± 6,0	2,1 ± 4,6	0,29 ± 1,0	2,9 ± 3,4
Pan amasado (U/sem)	0,48 ± 2,5	3,1 ± 6,1	0	0	0
Galletas y otros dulces (grs)	280 ± 380	114 ± 167	10 ± 22	64 ± 48	337 ± 323
Paltas y aceitunas (grs)	431 ± 388	250 ± 276	296 ± 425	296 ± 271	243 ± 121
Aceites vegetales (grs)	102 ± 67	71 ± 41	83 ± 17	65 ± 23	50 ± 43
Aceite de oliva y canola (grs)	6,5 ± 18	7 ± 18	14 ± 31	10 ± 23	42 ± 38
Fiambres fritos (grs)	57 ± 95	90 ± 172	0	0	31 ± 52
Fiambres no fritos (grs)	330 ± 188	147,5 ± 230	48 ± 52	35 ± 37,9	211 ± 159
Carnes fritas (grs)	322 ± 255	128 ± 103	76 ± 92	185 ± 448	278 ± 262
Carnes asadas (grs)	299 ± 456	213 ± 211	122 ± 84	70,8 ± 132	208 ± 136
Carnes cocidas (grs)	295 ± 189	500 ± 202	245 ± 154	340 ± 220	214 ± 211
Pescado frito (grs)	100 ± 177	61 ± 70	66 ± 47	25 ± 58	35 ± 47
Pescado cocido (grs)	94 ± 105	134 ± 142	114 ± 67	60 ± 53	201 ± 252
Mariscos (grs)	125 ± 224	64 ± 74	20 ± 44	27,5 ± 35	43 ± 49
Mayonesa (grs)	63 ± 72	17 ± 33	3 ± 6,7	8,75 ± 18	71 ± 61
Margarina (grs)	87 ± 141	20 ± 34	19 ± 29	37,5 ± 49	21 ± 26
Mantequilla (grs)	36 ± 68	30 ± 56	14 ± 31	6,2 ± 17	21 ± 37
Huevo frito o revuelto (Unidades/semana)	3,8 ± 3	2,7 ± 3,5	0,6 ± 0,89	1,0 ± 2,1	2,2 ± 2,5
Huevo cocido (U/semana)	0,85 ± 1,7	2 ± 4,1	1,6 ± 2	2,4 ± 2,7	1,0 ± 1,3
Tocino – chicharrones (grs)	21 ± 71	0	0	2,08 ± 7,2	3,3 ± 8,9
Cereales (grs)	22 ± 60,6	3,75 ± 10	56 ± 125	0	108 ± 255
Avena (grs)	25 ± 83	21 ± 39	42 ± 93	80 ± 153	48 ± 77
Papas fritas caseras (grs)	156 ± 258	71 ± 149	0	37 ± 52	66 ± 179
Papas fritas compradas (grs)	161 ± 300	0	0	0	78 ± 90

<b>Berlines (Unidades/semana)</b>	0,41 ± 0,78	0,14 ± 0,37	0	0,083 ± 0,28	0
<b>Picoteo salado (grs)*</b>	124 ± 271	35,7 ± 74	30 ± 44	21 ± 61	125 ± 157
<b>Flan (grs)</b>	64 ± 171	28 ± 75	0	0	41 ± 80
<b>Miel (grs)</b>	7,5 ± 24	40 ± 68	0	18 ± 43	0
<b>Manjar (grs)</b>	47 ± 67	0	0	3,3 ± 11	8 ± 22
<b>Mermelada (grs)</b>	45,9 ± 62	25,7 ± 34	10 ± 22,3	29,1 ± 37,7	16,6 ± 30,6
<b>Azúcar (grs)</b>	269 ± 300	90 ± 119	0	17,5 ± 60,6	30 ± 92
<b>Tacos (U/semana)</b>	0,20 ± 0,78	0	-	-	0,62 ± 0,78
<b>Hotdog (U/semana)</b>	1,3 ± 1,4	0,6 ± 1,1	0,02 ± 0,05	0,01 ± 0,05	0,45 ± 0,78
<b>Empanadas (U/semana)</b>	1,09 ± 1,4	0,15 ± 0,35	0	0,08 ± 0,16	0,35 ± 0,58
<b>Sopaipillas (U/semana)</b>	1,35 ± 1,8	0,14 ± 0,37	0	0,08 ± 0,16	0,13 ± 0,51
<b>Pizza (Porciones/semana)</b>	0,68 ± 1,4	0	0	0	2,1 ± 2,7
<b>Pan c/queso derretido (U/semana)</b>	0,56 ± 1,1	0	0,06 ± 0,12	0,12 ± 0,31	1,4 ± 2,5
<b>Wantan (porción/semana)</b>	0,03 ± 0,14	0	0	2,5 ± 8,6	0,13 ± 0,29
<b>Comida</b>	0,16 ± 0,59	0	0	0	0,31 ± 0,33
<b>Helado (grs)</b>	149 ± 288	17 ± 45	34 ± 52	50 ± 70	221 ± 371
<b>Chocolate (grs)</b>	130 ± 335	94 ± 186	6 ± 13	2,5 ± 8,6	165 ± 384
<b>Leche en polvo (grs)</b>	8,9 ± 47	443 ± 727	98 ± 136	122 ± 215	18 ± 72
<b>Café (tazas/semana)</b>	5,1 ± 8,8	7 ± 3,74	5,6 ± 5,8	2,75 ± 3,2	3,7 ± 5,6
<b>Te (tazas/semana)</b>	9,6 ± 12,4	3,1 ± 5,8	5,6 ± 5,8	5,4 ± 5,9	2,8 ± 4,0
<b>Coca light (cc/semana)</b>	378 ± 1.374	0	840 ± 1.252	166 ± 424	4.988 ± 5.860
<b>Coca normal (cc/semana)</b>	2.450 ± 2.640	1.211 ± 2.264	0	891 ± 2.168	413 ± 936
<b>Otras bebidas (cc/semana)</b>	708 ± 1.597	593 ± 1.397	100 ± 223	116 ± 404	766 ± 1.953
<b>Vino (cc/semana)</b>	302 ± 582	127 ± 227	260 ± 328	362 ± 790	162 ± 309
<b>Cerveza (cc/semana)</b>	623 ± 1.219	155 ± 466	210 ± 347	70 ± 215	574 ± 857
<b>Otros tragos (cc/semana)</b>	200 ± 285	33 ± 100	0	0	140 ± 158

**Tabla 9:** Contenido de CML en alimentos, medido por ELISA. Extracto mediciones grupo Dr. Uribarri [19].

<b>Table 1.</b> The advanced glycation end product (AGE) content of 549 foods, based on carboxymethyllysine content (continued)			
<b>Meats and meat substitutes</b>	<b>AGE Content</b>		
	<b>AGE kU/100 g</b>	<b>Serving size (g)</b>	<b>AGE kU/serving</b>
Chicken, curry, cube skinless breast, steam 10 min, broiled 12 min <sup>c</sup>	5,634	90	5,071
Chicken, dark meat, broiled, inside, 450°F, 15 min	8,299	90	7,469
Chicken, fried, in olive oil, 8 min	7,390	90	6,651
Chicken, ground, dark meat with skin, raw <sup>c</sup>	1,223	90	1,101
Chicken, ground, dark w/skin, pan fried, w/canola oil, 2.5 min, high heat <sup>c</sup>	3,001	90	2,701
Chicken, ground, white meat, pan fried, no added fat, 5 min, high heat <sup>c</sup>	1,808	90	1,627
Chicken, ground, white meat, pan fried, with oil	1,647	90	1,482
Chicken, ground, white meat, raw	877	90	789
Chicken, kebab, cubed skinless breast, pan fried, 15 min <sup>c</sup>	6,122	90	5,510
Chicken, leg, roasted <sup>b</sup>	4,650	90	4,185
Chicken, loaf, roasted <sup>c</sup>	3,946	90	3,551
Chicken, loaf, roasted, crust off <sup>c</sup>	1,420	90	1,278
Chicken, meat ball, potted (cooked in liquid), 1 h	1,501	90	1,351
Chicken, nuggets, fast food (McDonald's <sup>d</sup> )	8,627	90	7,764
Chicken, potted (cooked in liquid) with onion and water	3,329	90	2,996
Chicken, roasted <sup>c</sup>	6,020	90	5,418
Chicken, selects (McDonald's)	9,257	90	8,331
Chicken, skin, back or thigh, roasted then BBQ <sup>b</sup>	18,520	90	16,668
Chicken, skin, leg, roasted <sup>b</sup>	10,997	90	9,897
Chicken, skin, thigh, roasted <sup>b</sup>	11,149	90	10,034
Chicken, thigh, roasted <sup>b</sup>	5,146	90	4,631
Turkey, burger, pan fried with cooking spray, 5 min, high heat <sup>c</sup>	7,968	90	7,171
Turkey, burger, pan fried with cooking spray, 5 min, high heat, microwaved 13.5 sec, high heat <sup>c</sup>	8,938	90	8,044
Turkey, burger, pan fried with 5 mL canola oil, 3.5 min, high heat <sup>c</sup>	8,251	90	7,426
Turkey, ground, grilled, crust	6,351	90	5,716
Turkey, ground, grilled, interior	5,977	90	5,379
Turkey, ground, raw	4,957	90	4,461
Turkey, burger, broiled	5,366	90	4,829
Turkey, breast, roasted	4,669	90	4,202
Turkey, breast, smoked, seared <sup>c</sup>	6,013	90	5,412
Turkey, breast, steak, skinless, marinated w/orange juice, broiled <sup>c</sup>	4,388	90	3,949
<b>Pork</b>			
Bacon, fried 5 min no added oil	91,577	13	11,905
Bacon, microwaved, 2 slices, 3 min	9,023	13	1,173
Ham, deli, smoked	2,349	90	2,114
Liverwurst (Boar's Head)	633	90	570
Pork, chop, marinated w/balsamic vinegar, BBQ <sup>b</sup>	3,334	90	3,001
Pork, chop, raw, marinated w/balsamic vinegar <sup>b</sup>	1,188	90	1,069
Pork, chop, pan fried, 7 min	4,752	90	4,277
Pork, ribs, roasted, Chinese take out	4,430	90	3,987
Pork, roast, Chinese take out	3,544	90	3,190
Sausage, beef and pork links, pan fried	5,426	90	4,883
Sausage, Italian, raw <sup>b</sup>	1,861	90	1,675
Sausage, Italian, BBQ <sup>b</sup>	4,839	90	4,355
Sausage, pork links, microwaved, 1 min	5,943	90	5,349
<b>Lamb</b>			
Lamb, leg, boiled, 30 min	1,218	90	1,096
Lamb, leg, broiled, 450°F, 30 min	2,431	90	2,188
Lamb, leg, microwave, 5 min	1,029	90	926
Lamb, leg, raw	826	90	743

(continued)

**Table 1.** The advanced glycation end product (AGE) content of 549 foods, based on carboxymethyllysine content (continued)

Carbohydrates	AGE Content		
	AGE kU/100 g	Serving size (g)	AGE kU/serving
Bread, Greek, hard, toasted	607	30	182
Bread, Greek, soft	110	30	33
Bread, pita	53	30	16
Bread, white, Italian, center (Freihoffer's, Bimbo Bakeries, Horsham, PA)	23	30	7
Bread, white, Italian, center, toasted (Freihoffer's)	83	30	25
Bread, white, Italian, crust (Freihoffer's)	37	30	11
Bread, white, Italian, top crust, toasted (Freihoffer's)	120	30	36
Bread, white, slice (Rockland Bakery, Nanuet, NY)	83	30	25
Bread, white, slice, toasted (Rockland Bakery)	107	30	32
Bread, whole wheat, slice (Rockland Bakery)	103	30	31
Bread, whole wheat, slice, toasted, slice, (Rockland Bakery)	137	30	41
Croissant, butter (Starbucks, Seattle, WA)	1,113	30	334
Roll, dinner, inside	23	30	7
Roll, dinner, outside	77	30	23
<b>Breakfast cereals</b>			
Bran flakes, from raisin bran (Post, Kellogg Co, Battle Creek, MI)	33	30	10
Cinnamon Toast Crunch (General Mills)	1,100	30	330
Corn Flakes (Kellogg's)	233	30	70
Corn Flakes, Honey Nut (Kellogg Co)	320	30	96
Corn Flakes, Sugar Frosted (Kellogg Co)	427	30	128
Corn Pops (Kellogg's)	1,243	30	373
Cream of Wheat, instant, prepared (Nabisco, East Hanover, NJ)	108	175	189
Cream of Wheat, instant, prepared with honey (Nabisco)	189	175	331
Fiber One (General Mills)	1,403	30	421
Froot Loops (Kellogg Co)	67	30	20
Frosted Mini Wheats (Kellogg Co)	210	30	63
Granola, Organic Oats & Honey (Cascadian Farms, Small Planet Foods, Minneapolis, MN)	427	30	128
Life, meal (Quaker Oats, Chicago, IL)	1,313	30	394
Puffed Corn Cereal (Arrowhead Mills, The Hain Celestial Group, Inc)	100	30	30
Puffed Wheat	17	30	5
Rice Krispies (Kellogg Co)	2,000	30	600
Total, Wheat and Brown Rice (General Mills)	233	30	70
Oatmeal, instant, dry (Quaker Oats)	13	30	4
Oatmeal, instant, prepared (Quaker Oats)	14	175	25
Oatmeal, instant, prepared with honey (Quaker Oats)	18	175	31
<b>Breakfast foods</b>			
French toast, Aunt Jemima, frozen, microwaved 1 min (Pinnacle Foods)	603	30	181
French toast, Aunt Jemima, frozen, 10 min @ 400°F (Pinnacle Foods Corp)	850	30	255
French toast, Aunt Jemima, frozen, not heated (Pinnacle Foods Corp, Cherry Hill, NJ)	263	30	79
French toast, Aunt Jemima frozen, toaster medium-1 cycle (Pinnacle Foods)	613	30	184
Hot Cakes (McDonald's <sup>®</sup> )	243	30	73
Pancake, from mix	823	30	247
Pancake, frozen, toasted (General Mills)	2,263	30	679
Pancake, homemade	973	30	292
Waffle, frozen, toasted (Kellogg Co)	2,870	30	861
<b>Grains/legumes</b>			
Beans, red kidney, raw	116	100	116

*(continued)*