



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
SEDE ARAGUA**



**RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN
FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO,
MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO, ESTADO ARAGUA**

**Trabajo de Investigación
presentado como requisito
para la Asignatura por:**

**Br. Barrios T. Leenys A.
Br. Estrada P. Natalia D.**

LA MORITA, OCTUBRE DEL 2010



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
SEDE ARAGUA**



**RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN
FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO,
MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO, ESTADO ARAGUA**

**Trabajo de Investigación
presentado como requisito
para la Asignatura por:**

**Br. Barrios Leenys
Br. Estrada Natalia**

**Tutor Científico
Mg. Palacios Edgar**

**Tutora Metodológica
Prof. López Mariela**

La Morita, Noviembre del 2010



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
SEDE ARAGUA**



La Morita, Noviembre 2010

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE LOS TUTORES

En nuestro carácter de tutor científico y metodológico del trabajo titulado: **“RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO, MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO, ESTADO ARAGUA”**, el cual es presentado por las Bachilleres Barrios Leenys C.I 18.488.976 y Estrada Natalia C.I 18.855.895, para aprobar la asignatura Trabajo de Investigación, consideramos que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado.

Mg. Palacios Edgar

Prof. López Mariela

DEDICATORIA

A Dios, por brindarnos la fortaleza necesaria para levantarnos en momentos difíciles.

A nuestros padres, por darnos el regalo de la vida para estar hoy en día alcanzando una meta más y acompañarnos en todo momento.

A nuestras familias, por servir de apoyo a lo largo de nuestras vidas y estar ahí cuando más los necesitamos.

AGRADECIMIENTOS

Al Lcdo. Edgar José Palacios, quien en su rol de tutor, confió en nosotras en todo momento y nos guió con sus conocimientos a la realización de la presente investigación.

A la Lcda. María del Pilar Navarro por su apoyo en la búsqueda de información a la investigación y ayudarnos a fortalecernos como seres humanos.

A la Lcda. Mariela López por el aporte en la metodología de la investigación.

Al Prof. Luis Pérez por el aporte en los datos estadísticos de la investigación.

Al Lcdo. Julio González por la contribución en las determinaciones necesarias para la realización de la investigación.

Al Sr. Nelson Luces como vocero de la comunidad, apoyando en la logística y sirviendo como portavoz de nuestra investigación.

A todas aquellas personas que de alguna manera aportaron algo a la investigación y por su apoyo cuando se necesitó.

RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO, MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO, ESTADO ARAGUA

**Bachilleres: Barrios Leenys
Estrada Natalia**

Tutor Científico: Lcdo. Palacios Edgar

Tutora Metodológica: Lcda. López Mariela

La Morita, 2 de Noviembre del 2010

RESUMEN

El consumo del tabaco constituye un importante problema de salud pública siendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en el mundo. La nicotina es el principal componente del tabaco, cuyo principal producto de metabolización es la cotinina, es responsable del daño cerebral (a nivel de los receptores acetilcolinérgicos) y endotelial afectando secreción y absorción de insulina en el organismo. En esta investigación se determinaron cuantitativamente los niveles de cotinina e insulina basal en personas fumadoras y no fumadoras de la población de San Pablo, municipio Santiago Mariño, Turmero estado Aragua en 148 habitantes separados en dos grupos (74 fumadores y 74 no fumadores). Se utilizaron las técnicas de ELISA competitiva y electroquimioluminiscencia para determinar cotinina e insulina basal respectivamente. Se representaron los resultados como media \pm error estándar, valores absolutos y porcentajes, analizados estadísticamente usando T de Student y correlacional de Pearson mediante el programa Statistix 8.0. Los niveles de cotinina fueron significativamente ($P < 0,000$) mayores en fumadores (86,52 ng/mL) que en los no fumadores (8,31 ng/mL), y los niveles de insulina fueron levemente ($P = 0,047$) más bajos en fumadores (11,44 mg/dL) que en no fumadores (12,45 mg/dL). Así mismo se observó una relación entre la cotinina y la insulina basal con el tiempo del consumo del tabaco. En conclusión, existe una relación inversamente proporcional entre los valores de cotinina e insulina basal en fumadores, lo que indica un riesgo de desarrollar resistencia a la insulina, y más a largo plazo Diabetes Mellitus o trastornos metabólicos.

Palabras claves: Cotinina, Insulina, Diabetes, Tabaquismo, Fumadores y no fumadores.

**RELATION OF COTININE AND INSULIN BASALT IN SMOKERS AND NO
SMOKERS OF THE SECT SAINT PABLO, TOWN SANTIAGO MARIÑO,
TURMERO STATE ARAGUA**

**Authors: Barrios Leenys
Estrada Natalia**

Tutor scientis : Lcdo. Palacios Edgar

Tutor methodologic: Lcda. López Mariela

The Morita, 2 of Noverber 2010

SUMMARY

Snuff consumption is a major public health problem remains a major cause of morbidity and mortality worldwide. Nicotine is the main component of snuff, whose main product is the Cotinine metabolism, is responsible for brain damage (at acetylcholinergic receptor) and endothelial affecting insulin secretion and absorption in the body. This research quantitatively determined cotinine levels and basal insulin in smokers and nonsmokers in the population of Sao Paulo, Santiago Mariño Municipality, Aragua state Turmero in 148 people divided into two groups (74 smokers and 74 nonsmokers). Techniques were used competitive ELISA to determine cotinine electroquimioiluminiscencia and basal insulin respectively. Results were represented as mean \pm standard error, absolute values and percentages, statistically analyzed using T test and Pearson correlation using the program Statistix 8.0. Cotinine levels were significantly ($P < 0.000$) higher in smokers (86,52 ng / mL) than in nonsmokers (8,31 ng / mL) and insulin levels were slightly ($P = 0,047$) lower in smokers (11,44 mg / dL) than in non fumdores (12,45 mg / dL). Also there was a relationship between cotinine and basal insulin over time the consumption of snuff. In conclusion, there is an inverse relationship between cotinine levels and basal insulin in smokers, indicating a risk of developing insulin resistance, and longer-term diabetes mellitus or metabolic disorders.

Keywords: Cotinine, Insulin, Diabetes, Smoking, Smokers and nonsmokers.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	PP
Agradecimiento.....	iv
Resumen.....	v
Summary.....	vi
Índice General.....	vii
Índice de Tablas.....	viii
Índice de Figuras.....	ix
Introducción.....	x
El Tabaco y sus Componentes.....	1
Efectos del Tabaco sobre el Organismo.....	2
Objetivo General.....	4
Objetivos Específicos.....	9
Materiales y Métodos.....	9
Tipo de Investigación.....	10
Población.....	10
Muestra.....	10
Técnica e Instrumento de Recolección de Datos.....	11
Toma de Muestra.....	11
Procesamiento de las Muestras.....	12
Determinación de Cotinina.....	12
Determinación de Insulina.....	14
Determinación de Glicemia.....	15
Análisis Estadístico.....	16
Resultados.....	17
Discusión.....	28
Conclusiones.....	34
Recomendaciones.....	34
Referencias.....	35
Anexos.....	36
Anexo A.....	42
Anexo B.....	42
Anexo C.....	44
	47

ÍNDICE DE TABLAS

	PP
Tabla 1.....	17
Tabla 2.....	18
Tabla 3.....	19
Tabla 4.....	20
Tabla 5.....	23
Tabla 6.....	23
Tabla 7.....	24
Tabla 8.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

	PP
Figura 1.....	21
Figura 2.....	22
Figura 3.....	25
Figura 4.....	26

INTRODUCCIÓN

El consumo de cigarrillo, según cálculos de la Organización Mundial de la Salud, es la causa de por lo menos cuatro millones de muertes al año, donde las consecuencias de fumar cigarrillo van desde cambios fisiopatológicos en los sistemas respiratorio, cardiovascular y digestivo, hasta trastornos mentales asociados a la dependencia a la nicotina. Del mismo modo constituye la principal causa de enfermedad evitable y de mortalidad prevenible en los países desarrollados. En el año 2000 se calculaba que anualmente en el mundo se consumían unos 5,7 billones de cigarrillos, en este mismo sentido en América 845.337 millones de cigarrillos. Se proyecta que para el 2030, el número de muertes por tabaquismo será de más de 8 millones de personas, a menos que se adopten medidas urgentes, en este siglo, el tabaco podría matar a 1.000 millones de personas (OMS, 2008).

Se estima que el fumador reduce su expectativa de vida entre cinco y ocho años por cada cigarrillo fumado, es decir, se pierden aproximadamente 5 y ½ minutos de vida. Por lo tanto el aumento de la mortalidad puede ser tan grande que una de cada seis muertes se produce como consecuencia de fumar (Delgado y Araya, 2003).

En España, entre 1978 y 1992 se observó un descenso del porcentaje de hombres fumadores, pero la incidencia entre mujeres aumentó desde 17% a 21,4%, estas cifras arrojan que las mujeres en edad fértil son las más fumadoras, acercándose la incidencia del tabaquismo a la de los hombres. En Barcelona entre 1983 y 1992, el consumo de tabaco en los hombres disminuyó de forma considerable, por el contrario, en las mujeres aumentó

desde 20,9% a 25,4%. En los últimos 15 años, el aumento anual promedio de muertes atribuidas al tabaco es superior en la mujer, 6,7% frente a un incremento prácticamente nulo en el hombre. En cuanto a la mortalidad por cáncer de pulmón en las mujeres de EE.UU., superó a la del cáncer de mama, establecida durante años como la principal causa de muertes en mujeres con cáncer (Morcillo, 2001).

El tabaco y sus componentes

El tabaco es un alcaloide proveniente de la planta *Nicotiana* que abarca más de 50 especies clasificadas en cuatro grupos principales: *N. tabacum*, *N. petunioides*, *N. rustica*, *N. polidicla*. La especie *N. tabacum* se puede clasificar en cuatro variedades: *havanesis*, *brasilensis*, *virgínica* y *purpúrea*, que son el origen de las distintas variedades usadas en la comercialización. A su vez *N. tabacum*, que contiene más de 4000 sustancias químicas contenidas en dos fases: una corriente principal, inhalada por el fumador, y otra corriente secundaria o lateral, desprendida al ambiente por la punta del cigarrillo, encontrando mayor concentración de sustancias tóxicas y carcinógenas en esta corriente, estas sustancias químicas son precursoras de gran cantidad de compuestos gaseosos y sólidos (Ballem y cols., 2007, Bello y cols., 2005).

De los principales compuestos derivados del tabaco se encuentran el monóxido de carbono, formaldehído, acetaldehído, arsénico, entre otros, siendo la nicotina el compuesto de mayor importancia. La nicotina es un compuesto alcaloide soluble en agua responsable de la adicción al tabaco. La mayoría de los cigarrillos del mercado contienen 10 mg o más de nicotina,

de los cuales se inhala entre 1 y 2 mg/cigarrillo. En el humo de los cigarrillos está principalmente en forma de sales ácidas, por lo que su absorción a nivel bucal es mínima; de ahí la necesidad del fumador de hacer inhalaciones profundas para absorber la nicotina a nivel pulmonar en unos 7 segundos, arrastrando consigo todas las sustancias tóxicas presentes en el humo. Del pulmón, a través de la circulación pulmonar, pasa a circulación arterial, por lo que accede al cerebro muy rápidamente, en un plazo de 9-10 segundos. 90 % de la nicotina presente en circulación sistémica está libre en el plasma, lo que facilita el transporte hacia el interior de las células y su unión a receptores específicos. De esta distribución se absorbe a través de los pulmones entre 79 y 90% y en menor medida por la mucosa bucal y plexos sublinguales entre 4 y 40% y de la piel, donde la cantidad de nicotina absorbida va a depender de la forma en que se fuma el cigarrillo (Solano y cols., 2002, Mayor y Mayor, 2008).

La metabolización de la nicotina ocurre mayoritariamente en el hígado a través del citocromo P-450, formándose metabolitos sin capacidad adictiva: cotinina y nicotina 1'-N-óxido. La excreción de estos metabolitos, así como de la nicotina no metabolizada (entre 5 y 10 %) se produce principalmente a través del riñón, depende del pH de la orina (pH ácido favorece eliminación). Otras vías de eliminación son la saliva, el sudor, la leche materna y a través de la placenta. A nivel cerebral una parte de la nicotina se transforma en metabolitos intermedios (como nornicotina) que pueden ser neurotóxicos, y actuar sobre los receptores colinérgicos nicotínicos en el SNC (Solano y cols., 2002). 7% de la nicotina se excreta a nivel renal sin sufrir transformación, por lo cual es responsable de los efectos nocivos en el organismo (Mayor y Mayor, 2008).

En cuanto al metabolismo de la nicotina a nivel hepático el producto de mayor importancia es la cotinina, la cual es capaz de interactuar con los receptores nicotínicos del cerebro. Del mismo modo los niveles de cotinina son unas 10-15 veces más elevados que los de nicotina, debido a su vida media más prolongada de unas 20 horas, persistiendo en el organismo unos cuatro días, lo cual sirve para medir, mejor que la nicotina, la exposición al tabaco, por ser más estables a lo largo del día y detectarse en distintos fluidos biológicos (Vachinno y cols., 2006).

Las limitaciones de la cotinina no han sido reconocidas, aunque la concentración urinaria de cotinina se eleva al aumentar el número de cigarrillos por día, la concentración urinaria de cotinina llega a estabilizarse constante a 15 cigarrillos por día. Las posibles explicaciones para los diferentes niveles de la cotinina en personas que tienen un consumo similar de cigarrillos incluyen diferencias en la absorción y distribución, diferencias en la profundidad y duración de las inhalaciones, efecto del mentolado de los cigarrillos, diferencias genéticas en el metabolismo de la nicotina y diferencias en la eliminación de la cotinina (Vachinno y cols., 2006).

Efectos del tabaco sobre el organismo

Más de 40% de las muertes en Venezuela están representadas por enfermedades relacionadas con el hábito del tabaquismo, entre las cuales destacan las enfermedades del corazón y cáncer, seguidas por enfermedades cerebrovasculares, diabetes, enfermedades respiratorias, entre otras (MPPS, 2009).

Los efectos adversos del consumo del tabaco sobre la salud son bien conocidos y documentados, sabiendo que la nicotina es la responsable principal de los daños ocasionados al organismo, pues sirve como factor para el desarrollo de distintos tipos de cáncer, enfermedades respiratorias, enfermedades cardiovasculares, entre otras, cuyo principal medio de acción es el daño endotelial y cerebral (Ballen y cols., 2006)

La nicotina actúa en el cerebro sobre los receptores nerviosos llamados Acetilcolinergicos Nicotínicos, de manera que aumenta los niveles de dopamina, que actúa como neurotransmisor responsable de la sensación de placer, esta estimulación provoca un aumento de los niveles hormonales de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), de esta forma la liberación de adrenalina conlleva a la alteración de la acción de insulina y puede inducir insensibilidad a la misma. Igualmente afecta la actividad y síntesis de proteínas transportadoras de glucosa, además disminuye la producción de insulina a nivel pancreático (Mayor y Mayor, 2008). La mayor parte de estas características son consecuencia de daños a nivel endotelial, responsabilizándose al estrés oxidativo como el causante del deterioro en el tejido, de forma que las células endoteliales (Tagher, 2005).

Debido a estas alteraciones se establece una relación entre el consumo de cigarrillos y el desarrollo de la diabetes, bien sea que afecte la producción de insulina (Diabetes Mellitus insulino dependiente o tipo 1) o que afecte la absorción de la insulina (Diabetes Mellitus no insulino dependiente o tipo 2) (Fabian y Cobo, 2007).

Dicha relación entre la Diabetes Mellitus y el tabaco la demuestran Will y cols., (2001) quienes condujeron un estudio asociado al consumo de cigarrillos y Diabetes Mellitus; basándose en la evidencia de una asociación positiva de un estudio de cohorte prospectivo cuyo objetivo fue determinar si la mayor frecuencia de consumo de cigarrillos acelera el desarrollo de Diabetes Mellitus, donde los voluntarios reclutados fueron más de un millón de personas en 25 estados de EE.UU. Estos participantes (275.190 hombres y 434.637 mujeres) mayores o iguales de 30 años fueron seleccionados para el análisis primario, utilizando criterios predeterminados, obteniendo como resultado que la tasa de diabetes aumentó tanto en hombres como en mujeres. De los que fumaban dos paquetes por día al inicio del estudio, los hombres tenían una tasa de diabetes 45% mayor que los hombres que nunca habían fumado; se observó un aumento en comparación con las mujeres que fue de 74% con ello demostraron que dejar de fumar reduce la tasa de diabetes en comparación a la de los no fumadores después de cinco años en las mujeres y después de 10 años en los hombres, así como también una relación dosis-respuesta muy probable entre el tabaquismo y la incidencia de diabetes.

En cuanto a la Diabetes Mellitus se conoce como una enfermedad multifactorial que puede ser dada por una deficiencia en la producción de insulina, conocida como Diabetes Mellitus tipo 1, o por una resistencia a la insulina, conocida como Diabetes Mellitus tipo 2, donde 80 a 90% de las personas diabéticas desarrollan este tipo (Flores, 2005).

La insulina como principal hormona implicada en el desarrollo de la Diabetes Mellitus, cumple una función reguladora de la glucosa. Esta

hormona es producida a nivel del páncreas a nivel de las células β de los ístoles de Langherhans, transformándose de proinsulina a insulina y péptido C. La secreción de insulina está regulada por la interacción de sustratos, del sistema nervioso autónomo, de hormonas y de señales intercelulares (paracrinias) (Arteaga y cols., 1997).

Como se mencionó anteriormente la resistencia a la insulina es un factor predisponente para el desarrollo de Diabetes Mellitus, así como también que la nicotina influye sobre el endotelio deteriorándolo y de manera que afecta la secreción y absorción de sustancias, es por esto que se ha sugerido que la resistencia a la insulina que manifiestan los pacientes fumadores es producida por la nicotina (Fabian y Cobo, 2007).

Se conocen estudios previos donde la ingesta de nicotina reduce la sensibilidad de la insulina, bien sea que fumen cigarrillos o que usen chicles de nicotina por tiempos prolongados, conllevando tarde o temprano al desarrollo de un síndrome metabólico y complicarse en una Diabetes Mellitus tipo 2, inclusive si ya el paciente padece de Diabetes Mellitus tipo 2, la ingesta de nicotina (intravenosa) en no fumadores incremento un 30% la resistencia a la insulina (Tagher, 2005).

En el mismo sentido, Bjorn y cols. (1994) demostraron en un estudio sobre el síndrome de resistencia a la insulina en los fumadores la cual relaciona el hábito de fumar con el grado de resistencia a la insulina y, por consiguiente, con diversas manifestaciones del síndrome de resistencia a la insulina que incluyen los niveles de insulina, colesterol, lipoproteínas de alta densidad (HDL), triglicéridos, y el inhibidor de la activación del

plasminógeno-1. Utilizaron como muestra hombres fumadores no obesos, de 40 a 60 años de edad, los cuales habían fumado más de 10 cigarrillos por día durante al menos 10 años, todos estaban sanos. Obtuvieron como resultado que todos los individuos que tenían niveles normales de glucosa en ayunas (6,7 mmol/L). Sin embargo, 6 pacientes tenían niveles elevados de triglicéridos (2,2 mmol/L), y 9 tenían niveles elevados de colesterol alrededor de 6,5 mmol/L. Por lo que se demostró que existe una relación entre el grado de resistencia a la insulina y los hábitos de fumar y el deterioro de la sensibilidad a la insulina es probable que para dar cuenta de los factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares relacionadas con el síndrome de resistencia a la insulina en los fumadores.

La presente investigación busca aportar información en el comportamiento de la insulina y la estrecha relación entre el consumo de cigarrillos; lo que contribuiría en la detección precoz de alteraciones relacionadas con la hormona insulina, como Diabetes Mellitus y predecir posibles implicaciones de ciertas patologías asociadas, de esta manera concientizar el estado de salud de los consumidores de cigarrillo; así como también formar parte de la prevención para disminuir el consumo de esta droga y finalmente tomando en consideración esta asociación se evaluaron los niveles de insulina en relación con el hábito del tabaco.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los niveles de cotinina e insulina basal en fumadores y no fumadores del sector San Pablo, municipio Santiago Mariño, Turmero, estado Aragua.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la muestra en estudio de acuerdo al hábito tabaquico, el sexo, la edad, frecuencia, tiempo del consumo de cigarrillo y antecedentes familiares.
- Determinar la concentración sérica de cotinina en un grupo de fumadores y no fumadores de la población en estudio.
- Cuantificar los niveles de insulina basal en fumadores y no fumadores.
- Relacionar los niveles séricos de cotinina e insulina basal en fumadores y no fumadores.
- Relacionar los niveles de cotinina sérica e insulina basal con relación a la frecuencia y tiempo de consumo de cigarrillo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación

El tipo de estudio que se realizó es descriptivo, correlacional puesto que se busca especificar propiedades, características y rasgos importantes de la comunidad en estudio, donde se relacionaron los niveles de cotinina con los niveles de insulina basal en fumadores y no fumadores. De la misma manera está enmarcada en una investigación de tipo transversal en donde se estudiaron a los sujetos en un mismo momento.

Población y muestra

Población

Estuvo representada por todos los habitantes del sector San Pablo, Municipio Santiago Mariño, Turmero, estado Aragua.

Muestra

La muestra estuvo constituida por 148 habitantes del sector San Pablo, Municipio Santiago Mariño, Turmero, estado Aragua, distribuida de la siguiente manera.

Grupo A: (Grupo fumadores) 74 personas fumadoras de sexo femenino y masculino.

Grupo B: (Grupo no fumadores) 74 personas de sexo femenino y masculino que manifiesten no tener hábitos tabáquicos.

Técnica e instrumento de recolección de datos

La recolección de la información se realizó a través de una encuesta de tipo cuestionario (Anexo A), la cual se aplicó a los habitantes del sector San Pablo, Municipio Santiago Mariño, Turmero, estado Aragua que manifiestan ser fumadores y no fumadores, de tal manera la misma estuvo conformada por preguntas directas y cerradas.

La promulgación se llevó a cabo con la ayuda de uno de los miembros del consejo comunal, el Sr. Nelson Luces, el cual se encargó de hacer el llamado a los habitantes de la comunidad para la toma de muestra. Dicha toma se realizó previo consentimiento informado (Anexo B) de cada uno de los participantes en la casa comunal del sector San Pablo, Municipio Santiago Mariño, Turmero, estado Aragua.

Toma de muestra sanguínea

La toma de muestra se realizó por medio de punción venosa, extrayendo 10 mL de sangre que posteriormente se depositaron en un tubo sin anticoagulante; para la obtención del suero, se dejó coagular la sangre en baño de maría a (37⁰C) alrededor de 15 min para la retracción del coágulo, se procedió a centrifugar la muestra a 3000 rpm, se obtuvo el sobrenadante y posteriormente se retiró el suero con ayuda de pipetas. Seguidamente se

separó en alícuotas de 3 mL de suero en tubos ependorff para la determinación de cotinina, glicemia basal e insulina basal.

La conservación se llevó a cabo por medio de congelación a -20°C en pequeñas alícuotas para evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas que condujeran a la desnaturalización y agregación de las proteínas.

Procesamiento de las muestras

Determinación de Cotinina en suero

Fundamento

El método corresponde a la modalidad competitiva de ELISA DRG para la determinación cuantitativa de cotinina en suero. En la primera etapa de la muestra a ensayar (incluyendo controles positivos y negativos), se mezclaron en la placa de polietileno con los anticuerpos (anti-cotinina), que se encuentran fijados a ésta. Esta reacción comprende una competencia entre la cotinina que se encuentra libre en el suero y la cotinina ligada a la enzima (peroxidasa). Si la muestra contenía los antígenos específicos de cotinina libre, en mayor concentración estos formaron un complejo con los anticuerpos y permanecieron unidos al soporte, luego de los lavados respectivos con el tampón se eliminó el exceso de la enzima ligada al antígeno (Ag-E).

Procedimiento

Se llevó a cabo de la siguiente manera: primero se preparó un tampón para los lavados se realizó una dilución del mismo 1:30 con agua destilada, posteriormente se agregaron 10 μL de muestra, calibrador o control a cada uno de los pocillos de prueba y se agregaron 100 μL de la enzima de cotinina.

Se procedió a incubar por 30 min a temperatura ambiente, seguidamente se realizó el lavado de la placa por cuatro veces con 350 μL del buffer de lavado, luego se agregaron 100 μL de sustrato y se incubarán durante 30 min a temperatura ambiente y por último se agregaron 100 μL de la solución STOP para detener la reacción enzimática y poder leer la absorbancia a 450 nm durante los 30 min de agregada la misma (Anexo C).

El control de calidad se realizó incluyendo los calibradores cada vez que se realice un ensayo. Una vez finalizado el ensayo, se leyeron los resultados dentro de un plazo de 15 min. El control negativo tuvo una absorbancia mayor que la del calibrador de 25 ng/mL. El control positivo tuvo una absorbancia menor que la del calibrador de 25ng/mL. Si los controles negativos y positivos no tuvieran una absorbancia mayor o menor, respectivamente, que la del calibrador de 25 ng/mL, significa que no valieron los resultados del ensayo y se repitió el ensayo. La interpretación de los resultados se llevó a cabo de la siguiente manera:

Resultado positivo: Se consideró positiva cualquiera muestra que tuviera una concentración mayor que o igual a la del calibrador con límite de 25 ng/mL.

Resultado negativo: Se consideró negativo cualquiera muestra que tuviera una concentración menor a la del calibrador con limitación de 25 ng/mL.

Determinación de Insulina

Fundamento y procedimiento

Técnica sándwich con una duración total de 18 min.

1era incubación: la insulina de 20 μ L de muestra, un anticuerpo monoclonal biotinilado específico anti-insulina y un anticuerpo monoclonal específico anti-insulina marcado con quelato de rutenio formando un complejo sándwich.

2da incubación: después se incorporaron las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fijó a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.

La mezcla de reacción se trasladó a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micro partículas se fijaron temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminaron posteriormente con el reactivo ProCell. Se aplicó una corriente eléctrica definida, se produjo con

una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se medió directamente con un fotomultiplicador.

Los resultados se obtuvieron mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva principal incluida en el código de barra del reactivo.

Determinación de Glicemia Basal

Fundamento

La glucosa oxidasa GOD reaccionó específicamente con la glucosa en la muestra y se obtuvo un compuesto de color rojo cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de glucosa.

Procedimiento

En tubos de ensayo marcados como blanco, patrón y muestra se procedió como indica el cuadro.

	Muestra	Patrón	Blanco
<i>Reactivo de trabajo</i>	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
<i>Muestra.</i>	0,020 mL	-----	-----
<i>Patrón.</i>	-----	0,020 mL	-----

Se mezclaron e incubará a 37°C durante 10 min. Luego se enfrió con agua y se leyó a 510 nm ajustando el cero con el blanco y calibrando con el patrón.

Valores de referencia 70-110 mg/dl.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante frecuencia relativa y medidas de tendencia central. Además se utilizaron medidas de asociación, se aplicó Correlacional de Pearson y T student para establecer asociaciones entre los niveles de cotinina e insulina basal entre el grupo estudio y grupo control. Todos los datos obtenidos se procesaron mediante el programa estadístico Stadistix 8.0.

RESULTADOS

Una vez analizada la totalidad de 148 muestras con el objeto de establecer la relación de los niveles séricos de cotinina e insulina basal en grupo de fumadores y no fumadores y de haber realizado una evaluación en el comportamiento de dicha población de sexo femenino y masculino y diferentes edades con el hábito tabáquico se obtuvieron los siguientes resultados:

La muestra está conformada por 148, clasificándose en 74 sujetos voluntarios seleccionados al azar fumadores (70,2% hombres y 29,8% mujeres) y 74 no fumadores (51,3% hombres y 48,7% mujeres); cuyas características se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización de la muestra en estudio según edad y sexo

Características	Fumadores		No fumadores	
	\bar{X}	$\pm Es$	\bar{X}	$\pm Es$
Edad (años)	42,162 \pm 1,774		33,581 \pm 1,611	
Sexo	n: (74)		n: (74)	
Masculino	52		38	
Femenino	22		36	
	P<0,000			

En la tabla 1 se muestran las características de los sujetos estudiados con respecto a la edad (años) y el sexo observándose, para el sexo, que en el grupo de fumadores hay diferencias estadísticamente significativas (P<0,000), es decir, hay mayor cantidad de hombres fumadores con respecto

a las mujeres, y en el grupo de no fumadores presentan aspectos similares con respecto a los hombres y a las mujeres. En relación a la edad el promedio de la edad ($42,162 \pm 1,774$) de las personas fumadoras es mayor que el de las no fumadoras ($33,581 \pm 1,611$).

En la tabla 2 donde se observa el análisis de los sujetos en estudio con respecto al rango de edades, cantidad de fumadores, cantidad de cigarrillos fumados diarios y tiempo fumando, se evidenció que en el rango de edades entre 18 a 28 y 49 a 58 años se encuentra el mayor número de fumadores, que consumen entre 8 y 12 cigarrillos diarios, teniendo 8 o más años fumando. Sin embargo el grupo con mayor cantidad de cigarrillos fumados se encuentra en el rango de edades entre 59 a 68 años.

Tabla 2. Distribución de fumadores según el consumo diario de cigarrillos y años en el hábito del cigarrillo

Edades (años)	Grupo de Fumadores	\bar{X} Numero cigarrillos	\bar{X} Años fumando
18 – 28	20	8	8,2
29 – 38	8	8	14,2
39 – 48	15	7	17,2
49 - 58	20	12	26,1
59 - 68	10	16	35,1
69 - 78	1	3	55
Total	74	9	25,9

Con respecto a los valores promedios de los niveles de cotinina se evidenció que las personas fumadoras que participaron en el estudio

presentaron niveles de cotinina por encima del rango de referencia (≥ 25 ng/mL) ($86,52 \pm 2,57$ ng/mL) y las personas no fumadoras presentaron dichos valores dentro del rango de referencia ($8,31 \pm 0,33$ ng/mL). El análisis estadístico arrojó una diferencia altamente significativa ($P < 0,000$) entre los promedios de los valores de cotinina sérica de fumadores y no fumadores, es decir, que los fumadores tienen valores mayores que los no fumadores (Tabla 3).

En relación a la insulina basal se observó que los fumadores presentaron niveles de insulina basal de $11,44 \pm 0,36$ mg/dL y los no fumadores de $12,45 \pm 0,35$ mg/dL encontrándose valores similares en ambos grupos, lo que evidencia una diferencia levemente significativa ($P = 0,047$) entre los promedios de insulina basal de ambos grupos (Tabla 3), traduciéndose en que los fumadores presenta menores niveles de insulina en comparación con los no fumadores, a pesar de que la diferencia sea muy poca.

Tabla 3. Niveles de cotinina e Insulina basal en pacientes fumadores y no fumadores

Grupos	Concentración de Cotinina		Concentración de Insulina Basal	
	\bar{X}	$\pm Es$	\bar{X}	$\pm Es$
Fumadores	$86,52 \pm 2,57$ ng/dL		$11,44 \pm 0,36$ mg/dL	
No fumadores	$8,31 \pm 0,33$ ng/mL		$12,453 \pm 0,35$ mg/dL	

El análisis descriptivo demuestra una diferencia con respecto al número de cigarrillos fumados diarios y el aumento de la concentración de cotinina y al igual que una disminución de la concentración de insulina (Tabla 4), evidenciándose que a mayor cantidad de cigarrillos mayor será la concentración de cotinina y menor será la concentración de insulina basal. Así mismo el tiempo fumando influye en las concentraciones de cotinina e insulina; a más tiempo fumando, mayor será la concentración de cotinina y menor la concentración de insulina.

Tabla 4. Análisis de los niveles de Cotinina e Insulina Basal en relación a la frecuencia y tiempo de consumo de cigarrillos en pacientes fumadores.

	Numero de cigarrillos	Cotinina sérica	Insulina Basal Sérica	Tiempo de consumo (años)
$\bar{X} \pm Es$	9,79 \pm 0.89	86,52 \pm 2.57	11,44 \pm 0.36	19,25 \pm 1.54
Mínimo	3	35,7	54	1
Media	10	87,4	11,5	16
Máximo	25	132,3	117,0	55

El análisis de la comparación entre los niveles de cotinina e insulina basal en fumadores y no fumadores utilizando la correlación de Pearson mostró una relación inversamente proporcional entre los niveles de cotinina e insulina basal ($P < 0.000$) en los fumadores, es decir, que a medida que aumenta la concentración de cotinina disminuye la concentración de insulina, mientras que para los no fumadores la distribución fue de manera lineal entre ambas variables; la concentración de insulina se mantiene constante (Figura 1).

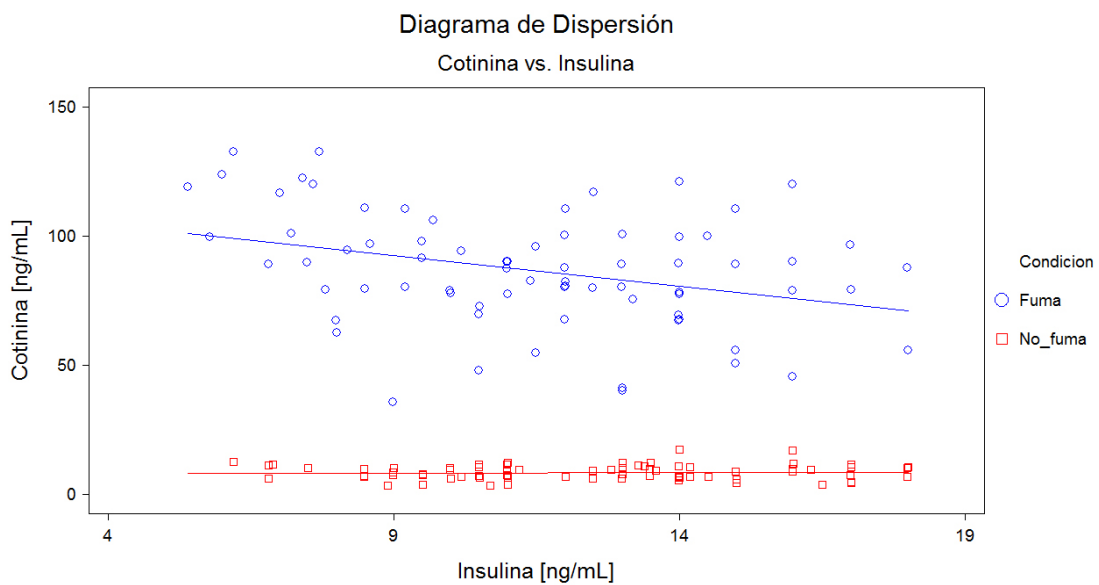


Figura 1. Diagrama de dispersión de concentraciones séricas de Cotinina vs. Insulina Basal

En cuanto al análisis de la relación entre los niveles de cotinina sérica y glicemia en ayunas en personas fumadoras mostró una relación directamente proporcional ($P=0,022$), lo que indica que a mayor concentración de cotinina hay mayor concentración de glucosa, mientras que para los no fumadores la distribución fue de manera lineal, es decir, la concentración de cotinina y glicemia se mantiene constante (Figura 2).

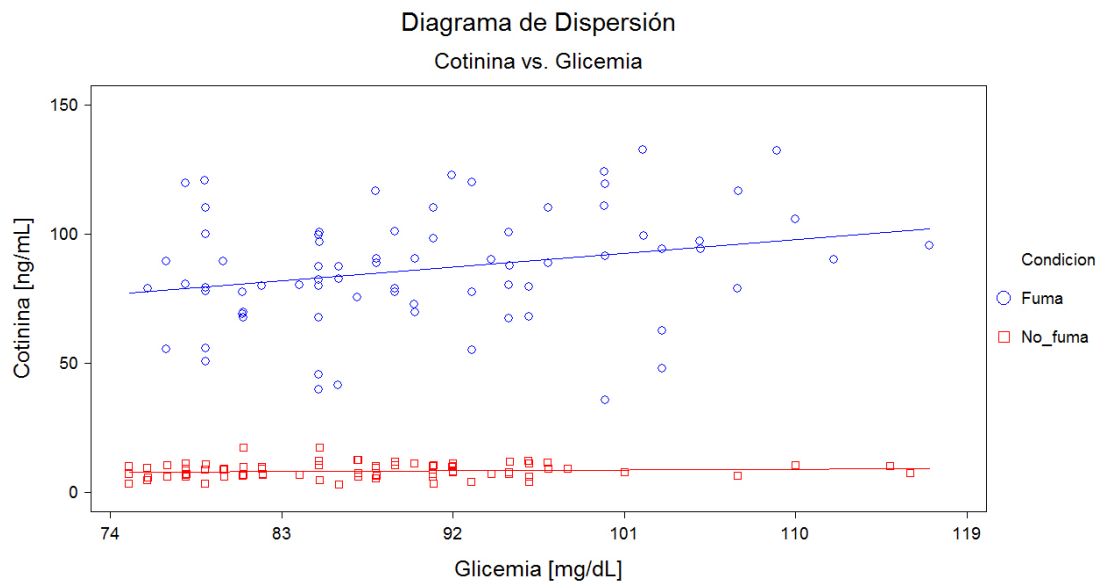


Figura 2. Diagrama de dispersión de concentraciones séricas de Cotinina vs. Glicemia en ayunas

En el análisis de la relación de número de cigarrillo diarios y los niveles de cotinina en fumadores se observó una relación directamente proporcional ($P < 0,000$), es decir, que a mayor número de cigarrillos, mayor será la concentración de cotinina sérica (Tabla 5).

Tabla 5. Cotinina y Número de Cigarrillos en Fumadores

Nro de cigarrillos	Cotinina		P
	\bar{X}	$\pm Es$	
1 a 5	74,79	3,5091	<0,000
6 a 10	83,73	3,5759	
11 a 20	96,84	5,766	
21 o más	112,55	5,4976	

En el análisis de la relación de número de cigarrillos diarios y los niveles de insulina en fumadores no se obtuvo cambios en la concentración por el consumo de cigarrillos ($P = 0,574$), traduciéndose en que no afecta la cantidad de cigarrillos fumados a la concentración de insulina (Tabla 6).

Tabla 6. Insulina y Número de Cigarrillos en Fumadores

Nro de cigarrillos	Insulina		P
	\bar{X}	$\pm Es$	
1 a 5	11,978	0,6076	0,574
6 a 10	11,304	0,6192	
11 a 20	11,480	0,9984	
21 o más	10,409	0,9519	

En el análisis de la relación de número de cigarrillo diario y los niveles de glicemia en fumadores se observó que no hubo cambios en la glicemia con respecto al consumo de cigarrillos, es decir, que no afecta la cantidad de cigarrillos fumados a la concentración de glicemia (Tabla 7).

Tabla 7. Glicemia y Número de Cigarrillos en Fumadores

Nro de cigarrillos	Glicemia		P
	\bar{X}	$\pm Es$	
1 a 5	89	1,9111	0,574
6 a 10	91,231	3,1403	
11 a 20	92,9	1,9475	
21 o más	92,182	2,9942	

En el análisis del tiempo fumando y la concentración de cotinina se evidenció una relación altamente significativa ($P < 0.000$), lo que demuestra que existe una relación directamente proporcional; a mayor tiempo fumando, mayor cantidad de cotinina sérica (Figura 6).

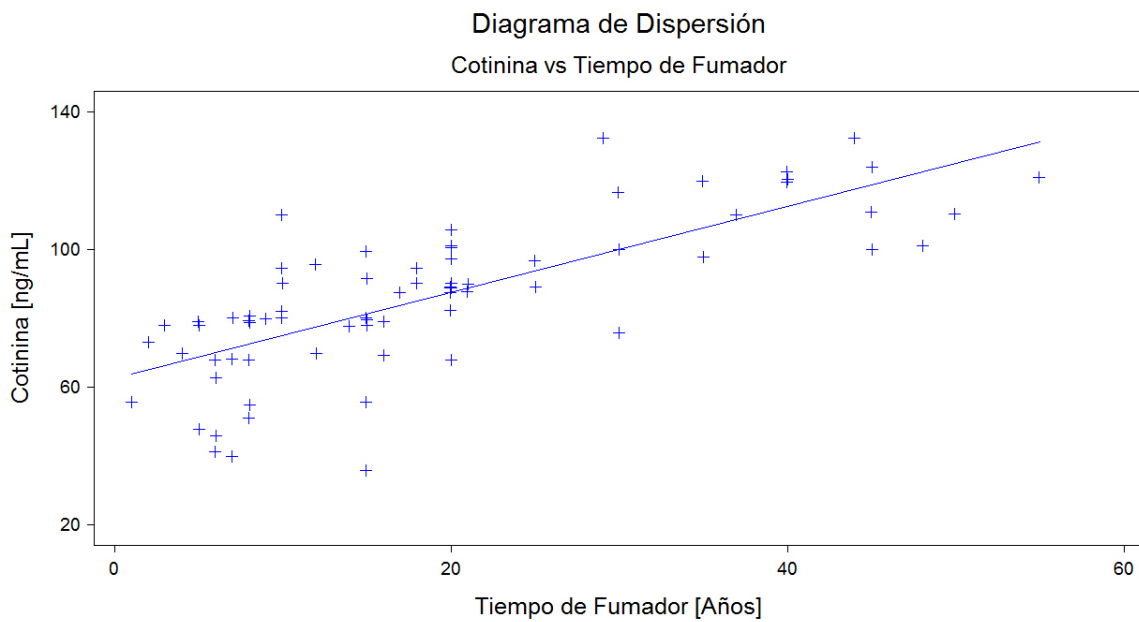


Figura 3. Diagrama de dispersión de Cotínina vs Tiempo de fumador

En el análisis del tiempo fumando y la concentración de insulina no se evidencia relación entre ambas variables ($P = 0,101$), es decir, que no afecta el tiempo fumando a la concentración de insulina (Figura 7).

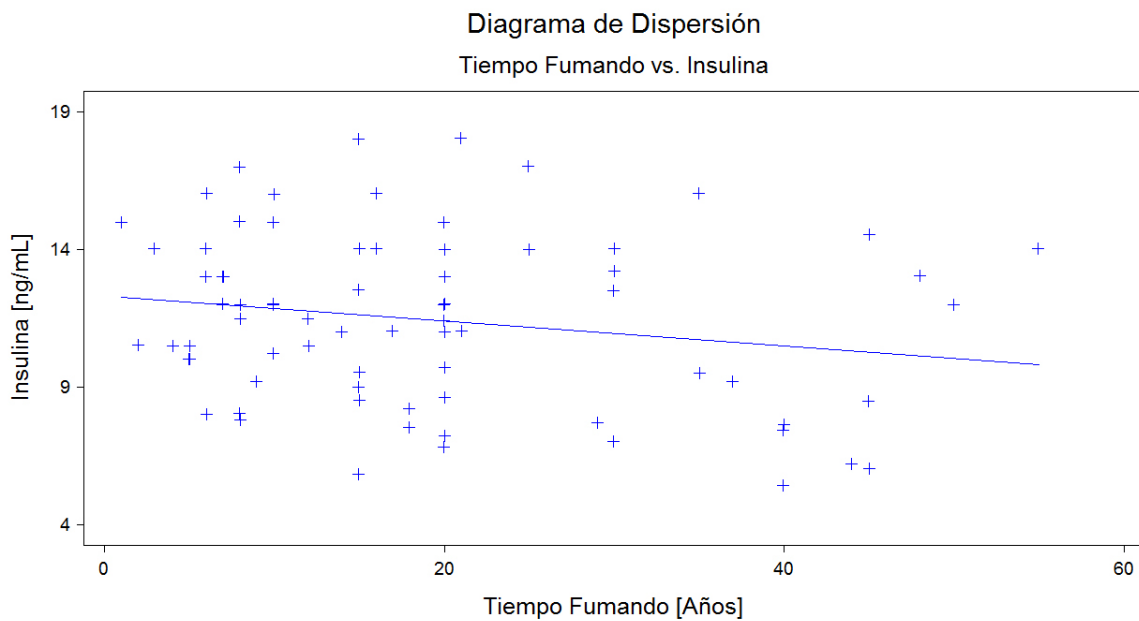


Figura 4. Diagrama de dispersión de Tiempo fumando vs Insulina.

En relación a los Antecedentes familiares de los sujetos fumadores con respecto a las siguientes variable se encontró: para familiares fumadores (P=0,782) no hubo diferencia en los valores de cotinina, es decir, que sin importar la presencia de un familiar fumador no se afecta la concentración de cotinina; con respecto a las variables hipertensión arterial (P=0,006) y exposición al humo en el trabajo (P=0,002) hubo diferencia significativa, demostrando que el padecer hipertensión arterial aumenta los niveles de cotinina y que la exposición al humo en el trabajo los disminuye.

Tabla 8. Antecedentes Familiares de los Fumadores.

Variables de estudio	Grupo de fumadores		
	SI	NO	P
Familiares fumadores	86,4% $\bar{X} = 86,10$	13.6% $\bar{X} = 89,23$	0,782
Hipertensión Arterial	87,8% $\bar{X} = 83,90$	12,2% $\bar{X} = 103,31$	0,006
Exposición al humo en el trabajo	72,9% $\bar{X} = 81,92$	27,1% $\bar{X} = 98,94$	0,002

DISCUSIÓN

El hábito del tabaco es un problema de salud pública a nivel mundial por sus altas tasas de morbilidad y de las enfermedades relacionadas a dicho hábito, en Venezuela más de 40% de las muertes están representadas por enfermedades relacionadas con dicho hábito, entre las cuales destacan las enfermedades del corazón y cáncer, seguidas por enfermedades cerebrovasculares, diabetes, enfermedades respiratorias, entre otras (MPPS, 2009) El humo del cigarrillo contiene sustancias tóxicas y nocivas para el ser humano, de estas sustancias la de mayor importancia es la nicotina, que es responsable de los daños endoteliales y a nivel cerebral. Estos daños afectan la secreción y producción de insulina en el organismo (ref), lo que conlleva al establecimiento de una resistencia a la insulina, pudiéndose complicar en Diabetes Mellitus y trastornos metabólicos (Fabian y Cobo, 2007).

En vista de la problemática que implica el fumar cigarrillos sobre los niveles de insulina, el presente estudio evaluó los niveles de cotinina e insulina basal en fumadores y no fumadores de la población de San Pablo, municipio Santiago Mariño, Turmero Edo. Aragua, obteniendo como resultado lo siguiente:

Los sujetos estudiados se encontraban en un rango de edades entre 18 a 72 años con una media de 32 años, observándose que entre 18 a 28 años y 49 a 58 años de edad se encuentra el mayor número de fumadores. Resultados similares en el rango de edades mostraron Prigol y cols., (2007), en su estudio del efecto del tabaquismo sobre el perfil lipídico y sus complicaciones, ya que participaron personas en edades comprendidas entre

18 y 45 años, mostrando una tendencia en cuanto al rango de edades estudiadas. Esto se asocia a que el tabaco es una droga legal y su venta es libre por lo que está al alcance de la población en general.

En cuanto al sexo, el mayor número de sujetos fumadores eran del sexo masculino (70,2%). En discrepancia Vacchino y cols., (2006), en su estudio sobre la determinación de cotinina y exposición a tabaco, observaron que participó un mayor número de sexo femenino (64,1%). Sin embargo Gómez y cols., (2005), en su estudio sobre la prevalencia del consumo del cigarrillo en estudiantes, obtuvieron 61% fumadores de sexo masculino y 39% fumadores del sexo femenino, coincidiendo con la muestra obtenida en la investigación. Esto puede ser debido a la preocupación de la salud por medio del sexo femenino en cuanto a la prevención de futuras enfermedades, a diferencia del sexo masculino que, mayormente adquiere el hábito por encontrarse con mayores niveles de estrés (ref).

En cuanto a la cantidad de cigarrillos fumados diariamente, se encontró en el estudio, que el rango de edades que consumía mayor cantidad de cigarrillos estaba entre 59 a 68 años, sin embargo Saavedra y cols., (2009), en su estudio sobre la prevalencia del hábito tabáquico en pacientes diabéticos, mostró que el rango donde se consume mayor cantidad de cigarrillos es entre 41 y 50 años. Este resultado se debe a que las personas con mayor edad tienen más tiempo fumando y, por causar placer y disociarse rápidamente por el organismo la nicotina absorbiéndose a nivel bucal, pulmonar y cerebral para metabolizarse a nivel hepático, lo que conlleva al aumento de la cantidad de cigarrillos fumados al día. (Ernest, 1986). Así mismo, en la muestra estudiada se observó que el tiempo

fumando fue de 25,9 años, coincidiendo con lo señalado por Pinillos y col., (2005), en un estudio para analizar los factores relacionados con el consumo de tabaco, donde observaron que 90 % de los fumadores han iniciado este hábito antes de los 20 años. Esto se corrobora con lo dicho anteriormente, por ser una droga legal y de venta al público, añadiendo que puede haber presión de grupos sociales, sobre todo en adolescentes, que hacen que se cree el hábito a temprana edad.

En relación a la cotinina, metabolito de la nicotina, utilizado como biomarcador del hábito de fumar, porque se mantiene por largos períodos en diferentes muestras biológicas, se observó en la presente investigación los niveles de cotinina en fumadores fueron mayores (86,52 ng/mL) que los valores de referencia < 25 ng/mL; coincidiendo con lo reportado por Vacchino y cols., (2006) en un estudio para evaluar los niveles de cotinina y la exposición al tabaco; quienes encontraron un aumento de los niveles del biomarcador en fumadores, a pesar que la muestra fue diferente. Estableciendo así una relación directamente proporcional entre el consumo de cigarrillo y el aumento de la concentración de cotinina en el organismo.

La insulina es una hormona secretada por las células B de los islotes de Langerhans del páncreas que participa en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, así mismo es la encargada de regular los niveles de glucosa circulante. En el presente estudio los niveles de insulina basal fueron levemente menores ($P=0,047$) en personas fumadoras y los niveles de glicemia fueron significativamente mayores ($P=0,022$) en fumadores; coincidiendo con lo reportado por Flores, (2005); Prigol y cols., (2007), quienes evaluaron los niveles de glicemia en fumadores y no

fumadores observando diferencias significativas mayores a los valores promedio de glicemia. Esto expone que existe una relación entre fumar y la insulina en el organismo establecida por el daño endotelial producido por la nicotina, la cual afecta la producción y secreción de insulina conllevando a un incremento en la glicemia.

En base a lo anterior dicho y con los resultados obtenidos, se observó una correlación inversamente proporcional y estadísticamente significativa entre los valores de cotinina e insulina basal en las personas fumadoras; donde el cigarrillo aumenta los niveles de cotinina y disminuye los niveles de insulina basal. No se consiguieron datos estadísticos con autores que realizaran trabajos relacionados a la investigación, sin embargo, Mayor, (2005) en su trabajo sobre estrategias metacognitivas en la intervención del tabaquismo, explica el daño a nivel cerebral y cómo afecta a la producción de distintas hormonas como la insulina; Fabian y Cobo, (2003) realizaron un estudio sobre el tabaquismo y la diabetes, donde explican los distintos daños que producen en el cuerpo humano al fumar cigarrillo y cómo afectan a la insulina, en su producción o en resistencia a ella.

Asimismo, en el presente estudio se observó correlación entre el tiempo fumando y los niveles de cotinina, pues a mayor tiempo fumando los niveles de cotinina fueron mayores, mostrando al igual que Vacchino y col., (2006) que el hábito tabáquico produce aumento de los niveles de cotinina. Sin embargo no se encontró relación entre el número de cigarrillos fumados al día y la concentración de cotinina, al igual que Scot y col., (2005) quienes compararon niveles séricos de cotinina en fumadores y no fumadores con los cigarrillos fumados por día, reportando que no hubo diferencia

estadísticamente significativa en el grupo de fumadores. Esto quiere decir que la cantidad de cigarrillos fumados no va a afectar la cantidad de nicotina que se absorba en el organismo, es decir, es independiente.

Por otra parte, no se observó relación entre los niveles de cotinina con respecto a vivir con familiares fumadores, en cambio si se observó relación para la hipertensión arterial y para la exposición al humo. Al igual que Flores, (2005) que obtuvo una relación entre los niveles de cotinina con respecto a la hipertensión arterial. En cuanto a la exposición al humo, donde se evidenció un aumento de los niveles de cotinina en personas fumadores no expuestas al humo, se justifica con la comparación de esta variable con respecto al tiempo que tienen fumando, explicando así que los fumadores que mayor tiempo fumando eran los menos expuestos al humo.

En la muestra que se analizó no hubo restricciones de edades para el estudio, ni tampoco exclusión por diferencias de sexo, lo que hace que la muestra sea diversa y los resultados posiblemente no se observen tan acentuados, a pesar de que se excluyeron personas diabéticas y obesas, donde se pudieran encontrar valores alterados de insulina y glicemia principalmente, he ahí la razón por la cual la insulina en fumadores no tuvo una disminución tan convincente. Así mismo, el consumo de cigarrillos no afecta las concentraciones de insulina y glicemia pero si la cotinina, que puede variar si se restringe la muestra a la misma edad con diferentes cantidades de cigarrillos, al igual que existen cambios en la absorción de la nicotina entre los seres humanos.

En consideración con los resultados del presente estudio, donde se muestra una correlación inversamente proporcional entre niveles de cotinina e insulina basal en individuos fumadores y si se conocen las implicaciones que estas puedan derivar como resistencia a la insulina, síndrome metabólico y Diabetes Mellitus, sería importante realizar estudios relacionados con otras hormonas reguladoras de glicemia como glucagón, somatostatina, adrenalina, entre otras, así mismo como pruebas que evalúen el funcionamiento endocrino del páncreas como péptido C, HbA1, cuerpos cetónicos, entre otros.

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de cotinina en los sujetos fumadores fueron mayores que en los no fumadores ≥ 25 ng/dL.
2. Los niveles de insulina en individuos fumadores rodean al límite inferior de 10 mg/dL, condición predictiva para las patologías tales como resistencia a la insulina, Diabetes Mellitus.
3. Se halló una relación inversamente proporcional entre los niveles de cotinina e insulina basal en las personas fumadoras.
4. Para las personas no fumadoras los niveles de cotinina e insulina se observaron dentro de los valores de referencia.
5. Se obtuvo una relación significativa entre el tiempo fumando y los niveles de cotinina e insulina, a diferencia de la cantidad de cigarrillos fumados diarios donde no hubo relación.
6. Los antecedentes familiares mostraron relación significativa con las concentraciones de cotinina e insulina basal para la hipertensión arterial, mientras que para exposición al humo y vivir con familiares fumadores no tuvo relación.

RECOMENDACIONES

1. Evaluar los niveles de cotinina con otras hormonas secretadas por el páncreas como glucagón, somatostatina, péptido C, entre otras, con la finalidad de conocer, de manera temprana, si existe algún daño a nivel endotelial.
2. Realizar un seguimiento a personas que cumplan con las mismas características de la muestra que tengan establecida o antecedentes de Diabetes Mellitus.
3. Caracterizar la muestra en un rango de población más estrecho.

REFERENCIAS

- Arteaga, A., Olmos, P. y Velasco, N. (1997). Manual de Diabetes y Enfermedades Metabólicas. [Documento en línea]. Disponible: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/IntegradoTercero/ApFisiopSist/nutricion/Nutricion1.html> [Consulta; Julio 20, 2009]
- Axelsson T, Jansson PA, Smith U, Eliasson B.(2001). Nicotine infusion acutely impairs insulin sensitivity in type 2 diabetic patients but not in healthy subjects. *J Intern Med* 2001;249:539-544.
- Ballén, M., Gualdrón, A., Alvarez, D. y Ricón, A. (2006). El Cigarrillo: Implicaciones Para La Salud. [Documento en línea]. Disponible: <http://www.revmed.unal.edu.co/revistafm/v54n3/v54n3a05.html> [Consulta; Julio 24, 2009].
- Bello, S., Michalland, S., Soto, M., Contreras, C. y Salinas, J. (2005). Efectos de la exposición al humo de tabaco ambiental en no fumadores. *Revista Chilena Enfermedades Respiratorias*, 2, 179-192.
- Castieiras, M., Fuentes, X. y Queraltó, J. (1999). Bioquímica clínica y patología molecular. [Libro en línea]. Editorial Reverte. Disponible: http://books.google.co.ve/books?id=nM8ED6gYou0C&dq=diabetes+mellitus&lr=lang_es&source=gbs_navlinks_s [Consulta: Agosto 12, 2009]

Cuppett, M. y Walsh, K. (2005). Medicina general aplicada al deporte. [Libro en línea]. Elsevier España. Disponible: http://books.google.co.ve/books?id=Sbd_X0X5Rc4C&dq=diabetes+mellitus&lr=lang_es&source=gbs_navlinks_s [Consulta: Julio 12, 2009]

Delgado, K. y Araya, M. (2003). *Ley de Reestructuración de la Carga Tributaria Que Pasa Sobre los Productos Derivados del Tabaco: Año 2003* [Ley], San José, Costa Rica.

Ernest, A. (1986). Marihuana, tabaco, alcohol y reproducción. [Libro en línea]. Ediciones Díaz de Santos. Disponible: http://books.google.co.ve/books?id=XuBlhO4fGkwC&dq=tabaco&lr=&source=gbs_navlinks_s [Consulta: Junio 25, 2009].

Fabian, M. y Cobo, C. (2007). Tabaquismo y Diabetes. *Medigraphic Artemisa on line*, 20(2), 149-158.

Fernández, J. (2008). Manejo de la Dislipidemia Diabética. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 39(1), 16-26.

Flores, L. (2005). Estrés Oxidativo y Fibrinogénesis en la Diabetes Mellitus Tipo 1: Influencia del Control Glucémico y del Consumo de Tabaco.

Goday, A. (2002). Epidemiología de la diabetes y sus complicaciones no coronarias. *Revista Española de Cardiología*, 55(6), 657-670.

Gomez, E., Montenegro, D. y Giusti, M. (2005). Prevalencia del Consumo de Cigarrillos en Estudiantes de Medicina y de Bioquímica de la Unne. *Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina*, 144, 7-10.

Guyton, A. y Hall, J. (2006). *Fisiología Médica*. [Libro en línea]. Elsevier España. Disponible: http://books.google.co.ve/books?id=K8-d-KzxvTYC&source=gbs_navlinks_s [Consulta: Julio 12, 2009].

Jimenez, C. y Solano, S. (2004). Tabaquismo. *Monografías neumomadrid*, 2, 1-168.

Lerman, I., Aguilar, C., Gómez, F., Reza, A., Hernández, S., Vázquez, C. y Rull, J. (2004). Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, sobre la definición, fisiopatológica y diagnóstico. Características del síndrome metabólico en México. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 12(3), 109-222.

Lozano, E., Sánchez, L., Benowitz, N., Barbosa, L., Hernández, M. (2007). Elevada Concentración de Metabolitos de Cotinina en Hijos de Padres Fumadores. *Salud Pública Mex*, 47(2), 213-223.

Martín, A., Rodríguez, I., Rubio, C., Revert, C. y Hardisson, A. (2004). Efectos tóxicos del tabaco. *Revista de Toxicología*, 21, 64-71.

Mayor, L. (2010). Estrategias Metacognitivas en la Intervención del Tabaquismo.

Ministerio del Poder Popular para la Salud 2009

Moran, V. (2007). Efectos de Tabaquismo Materno en el Desarrollo Prenatal. *Medigraphic Artemisa on line*, 64, 69-71.

Morcillo, M. (2001). Tabaco y embarazo en un área sanitaria de la Comunidad de Madrid. *Prevención del Tabaquismo*, 3(1), 20-25.

Moreno, J. y Herrero, F. (2003). *Tabaquismo programa para dejar de fumar*. [Libro en línea]. Ediciones Díaz de Santos. Disponible: http://books.google.co.ve/books?id=yPWXcQFV8n0C&dq=cotina&source=gbs_navlinks_s [Consulta: Julio 20, 2009].

Nunes, E. (2006). Consumo de Tabaco. Efeitos na saúde. *Revista Portuguesa Clínica*, 22, 225-244.

Nussbaum, R., MacInnes, R. y Willard, H, (2004). *Thompson & Thompson: genética en medicina*. [Libro en línea]. Elsevier España. Disponible: http://books.google.co.ve/books?id=xVnyMh1J6rAC&dq=thompson&lr=&as_brr=3&source=gbs_navlinks_s [Consulta: Agosto 2, 2009].

Organización Mundial de la Salud. (2008). *Informe OMS Sobre la Epidemia Mundial de Tabaquismo, 2008* [Publicación]. Salta: Bloomerg, P.

Palou, A., Anadón, A., Bosch, A., Martín, M., Monereo, S., Rodríguez, F., Valera, G. (2006). *Revista del Comité Científico*, 31-54.

- Pineda, C. (2008). Síndrome metabólico: definición, historia, criterios. *Colombia Médica*, 39(1), 96-106.
- Prigol, M., Marmentini, F., Aparecida, N., Manoela, S. (2007). Efeito do tabagismo sobre o perfil lipídico e suas implicações em detentos internos do Presídio Estadual de Erechim-RS. *RBAC*, 39(1), 3-8.
- Rivera, E. (2001). *Diabetes mellitus: Programa para su tratamiento dietético*. [Libro en línea]. Editorial Pax México. [Consulta: Julio 11, 2009].
- Samet, J. (2002). Los riesgos del tabaquismo activo y pasivo. *Revista Salud Pública de México*, 44(4), 144-160.
- Solano L., Meertens L., Abreu J., Amanaú D., y Araque L. (2001). Vitamina A, C Y E en adolescentes venezolanos fumadores y no fumadores. *SciELO*, 14(1).
- Tagher G. (2005). ¿Cómo influye el tabaco sobre la sensibilidad de la insulina?. *Diabetes Voice*, 50, 23-25.
- Tagher G., Alberiche M., Zenere M., Bonadonna R., Muggeo M., y Bonara E. (1997). Cigarette Smoking and Insulin Resistance in Patients with Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(11), 3619-3624.
- Tziomalos K., Chasoulis F. (2004). Endocrine effects of tobacco smoking. *Clinic Endocrinol*, 61, 664-674.

Vachinno M., Velurtas S., Salinas G., Garcialoredo H. (2006). Determinación de Cotinina y Exposición a Tabaco. *Revistas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 40(002), 181-185.

Wei W., Kim Y., y Bourdreau N. (2001). Association of Smoking With Serum and Dietary Levels of Antioxidants in Adults: NHANES III, 1988-1994. *American Journal of Public Health*, 91(2), 258-264.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS



ASIGNATURA DE TRABAJO DE INVESTIGACION

ANEXO A

Se le presenta esta encuesta a los habitantes de la población de Turmero sector San Pablo con el fin de realizar nuestro trabajo de investigación, titulado **RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN PACIENTES FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO, MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO ESTADO ARAGUA** por lo que se agradece responder cada una de estas preguntas con la mayor sinceridad para así llevar a cabo este estudio.

ENCUESTA

I.- Datos Personales

1) Nombre y Apellidos _____

2) Edad: () años

3) Sexo: M F

4).¿Fumas cigarrillo? SI NO

5) ¿Cuántos cigarrillos al día? De 1 a 5 _____

De 6 a 10 _____

11 a 20 _____

21 o más _____



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS
ASIGNATURA DE TRABAJO DE INVESTIGACION



ANEXO B

CONSENTIMIENTO INFORMADO

De la investigación titulado; **RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO, MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO ESTADO ARAGUA.**

El consumo de cigarrillos produce daños en el organismo por medio de sus compuestos, principalmente la nicotina. La nicotina es un agente tóxico que viaja rápidamente por el organismo, a través de la sangre, y se disemina a los distintos tejidos y órganos, produciendo daños a nivel hepático, intestinal, pancreáticos, cerebrales, entre otros. El daño en los órganos y tejidos conlleva a procesos patológicos como cáncer, infarto, enfermedades respiratorias y cerebrovasculares, entre las más importantes. El daño a nivel del páncreas e indirectamente a la producción de insulina produce alteraciones metabólicas, lo que se traduce como posible complicación y se puede desarrollar una Diabetes Mellitus tipo II (no insulino dependiente). Por lo tanto, los valores que se obtengan de insulina basal se verán alterados por efecto de la nicotina y se relacionara con ella a través de la determinación de cotinina; a mayor concentración de cotinina, mayor cantidad de insulina.

Por tales razones es importante el estudio del efecto que tiene la nicotina contenida en el humo del cigarrillo, específicamente, la relación con la insulina sobre el metabolismo de la glucosa basal, la cual es objeto de estudio; en los habitantes de turmero , sector san pablo estado Aragua.

Yo _____, portador de la Cedula de identidad N° _____, Domiciliado en

_____, mayor de edad y en uso pleno de mis facultades mentales y sin ninguna coacción o violación alguna, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera clara, objetiva y sencilla, sobre todos los aspectos relacionados con el presente proyecto de investigación, por parte de las autoras del mismo, tutorado por el prof. Edgar Jose Palacios Velandia ambos tutores científicos del proyecto.
2. Tener conocimientos claro que el objetivo principal del estudio es:
RELACIÓN DE LOS NIVELES DE COTININA E INSULINA BASAL EN PACIENTES FUMADORES Y NO FUMADORES DEL SECTOR SAN PABLO, MUNICIPIO SANTIAGO MARIÑO, TURMERO ESTADO ARAGUA.
3. Conocer el propósito experimental expuesto por los investigadores, en el cual se establece que mi participación en el estudio consiste en permitir que me realicen una toma de muestra de sangre 10 cc para la determinación de cotinina, glicemia e insulina basal.
4. Que la información suministrada al equipo de investigación será utilizada para lograr el objetivo planteado, pero que me será garantizada

confidencialidad relacionada tanto con mi identidad como con cualquier información relativa a mi persona.

5. Que los resultados del proyecto solo serán utilizados para fines académicos y de su investigación.
6. Conocer que mi participación en el estudio no representa riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.
7. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido, ni pretendo recibir beneficio de tipo económico, producto de los posibles hallazgos en el referido proyecto de investigación.
8. Que los resultados obtenidos en esta investigación de cotinina, glicemia basal e insulina basal me serán entregados en un reporte por escrito.

DECLARACION DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento, y por cuanto la participación en este estudio es completamente voluntaria, acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a su vez autorizar al equipo de investigación de la Universidad de Carabobo, sede Aragua, realizar el referido estudio.
2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización, sin que ello traiga algún tipo de consecuencia para mi persona.

Voluntario(A)

Investigador

Firma: _____

Firma: _____

C.I. _____

C.I.: _____

Lugar: _____

Lugar: _____

Fecha: ___/_____/200__

Fecha: ___/_____/200__

ANEXO C

DRG®

DRG® Serum Cotinine (EIA-3242)



Revised 12 Dec. 2006

RUO in the USA

INTENDED USE

The DRG® Cotinine EIA Micro-Plate EIA kit is intended for use in the qualitative and semi-quantitative determination of Cotinine in serum or plasma. Other kits are available for urine and saliva. In the United States, this kit is intended for Research Use Only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The DRG® Cotinine EIA is a competitive micro-plate immunoassay for the qualitative and semi-quantitative determination of cotinine in serum or plasma. The test relies on the competition between free drug in the sample and drug bound to enzyme for antibody fixed on a polystyrene plate. Excess enzyme is washed away, substrate is added, and the measured absorbance is inversely proportional to the amount of free drug in the sample.

REAGENTS PROVIDED

Anti-Cotinine Coated plate (1plate)

Anti-Cotinine antibody immobilized on a polystyrene plate, 12 x 8 wells in break-a-part format. Store at 2-8° C.

Cotinine Enzyme Conjugate – (12 mL) Buffered protein reagent with stabilizers. Ready to use.

Wash Buffer Concentrate (30 x) – (50 mL) Requires dilution with distilled water before use. Dilute contents of the vial to 1500 mL with distilled water.

Substrate Solution – (20 mL) One bottle containing 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine.

Stop Solution – (20 mL) 1 Molar Sulphuric acid. Treat as corrosive.

Negative Calibrator – (1mL)

Protein matrix negative for Cotinine

Positive Calibrators (1 mL each level)

Protein matrix containing 10 ng/mL Cotinine

Protein matrix containing 25 ng/mL Cotinine

Protein matrix containing 50 ng/mL Cotinine

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. The handling of food or drink near the kit is not recommended.
2. Proper handling of all reagents is strongly advised. It is suggested that disposable materials are used to avoid contamination of Substrate Reagent. Discard Substrate Reagent if strong color develops.
3. Do **NOT** mouth pipet reagents. Handle all specimens and reagents as if potentially infectious.
4. Do **NOT** add Sodium Azide to samples as a preservative.

5. Keep all containers closed when not in use to avoid microbial contamination.
6. Do **NOT** use reagents past the expiration date.
7. Do **NOT** mix reagents from different kits or manufacturers.
8. Do **NOT** freeze reagents.
9. It is suggested that all DRG® Reagents be kept out of direct sunlight whenever possible.
10. Stopping reagent is corrosive; handle with care.

STORAGE/STABILITY

Store all reagents at 2-8°C. The stability of the DRG® Cotinine Micro-Plate EIA kit is a minimum of 6 months from date of manufacture when stored at 2-8° C. The expiration dates appears on all components.

SPECIMENS

Serum: Whole blood should be collected using proper aseptic technique. After clotting, serum should be separated and properly stored (at 2-8° C) if not used immediately.

ASSAY PROCEDURE

Prepare wash buffer by 1:30 dilution with distilled water

1. Note: Allow all reagents to come to room temperature (20-27° C) before use. At the discretion of the operator, all samples, calibrators, and controls may be tested in duplicate.
2. Add 10 µL of sample, calibrator, or control to each test well.
3. Add 100 µL of Cotinine Enzyme to each test well.
4. Incubate for 30 minutes at room temperature (20-27°C).
5. Wash the plate four times with 350 µL of Wash Buffer.

6. Add 100 μ L of Substrate Solution to each well and incubate for 30 minutes at room temperature (20-27°C).
7. Add 100 μ L of Stop Solution to each well.
8. Measure the absorbance at 450 within 30 minutes.

Quality Control

For qualitative assays, the Negative Control must have an absorbance greater than the Cut-off Calibrator (25 ng/ml). The Positive Control must have an absorbance less than the Cut-Off Calibrator.

**DRG International Inc., USA Fax: (908) 233 0758 e-mail:
corp@drginternational.com**