

Valoración terapéutica del agua de mar en modelos experimentales como terapia complementaria en anemia

María Di Bernardo¹
Aribert Castro²
Yasmin Morales³
Sonia Boueiri⁴
Sulay Brito⁵
Carlos Rondón⁶
Rosa Ortiz⁷
Nathaly Hernández⁸

¹ Farmacéutico. Doctorado en Química Analítica. Departamento de Toxicología y Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

² Licenciado en Bioanálisis. Estudiante de Maestría en Química aplicada del Posgrado de Química Analítica. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

³ Farmacéutico. Mgtr en Ciencias Médicas Fundamentales. Centro de Microscopia Electrónica "Dr Ernesto Palacios Prú". Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

⁴ Abogada. Doctora en Derecho. Departamento de Control Social. Facultad de Ciencias Jurídicas y Políticas. Escuela de Criminología. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

⁵ Técnico Superior Universitario. Agrotecnia. Ministerio de Educación. Mérida. Venezuela.

⁶ Químico. Doctorado en Química Analítica. Laboratorio de Espectroscopia Molecular. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

⁷ Licenciada en Trabajo Social. Mgtr en Filosofía. Facultad de Ciencias Jurídicas y Políticas. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

⁸ Licenciada en Bioanálisis. Departamento de Físicoquímica. Escuela de Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

Correspondencia: Farmacéutico María Di Bernardo. Dirección: Urbanización Campo de Oro, Calle Principal, Edificio Carlos Edmundo Sala. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. Apartado postal 5101. Correo electrónico: girard@ula.ve

RESUMEN

Introducción: la anemia es un problema de salud pública a nivel mundial, según la Organización Mundial de la Salud afecta en todo el mundo a 1620 millones de personas. En América Latina y el Caribe el 31% de la población presenta problemas de anemia asociadas a dietas deficientes de hierro y relacionadas con malnutrición. **Objetivo:** evaluar los efectos terapéuticos del agua de mar isotónica microfiltrada al frío como terapia complementaria en modelos biológicos con anemia inducida experimentalmente por dietas pobres en proteínas, vitaminas y minerales, y por medicamentos. **Materiales y métodos:** se contó durante ocho semanas con 50 ratones cepas NMRI, de ambos géneros y en edad adulto-joven. Se dividieron en cuatro grupos experimentales de 10 ratones cada uno, incluyendo un grupo control. Fueron evaluados al inicio y final del experimento los parámetros hematológicos, pH salival, cobre y zinc. Al final del experimento fueron sacrificados por dislocación cervical y autopsiados para examinar bazo, hígado y riñón. **Resultados:** los modelos experimentales bajo ingesta de agua de mar con relación al grupo sin agua de mar, independiente del tipo de anemia inducida, evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con restablecimiento de los parámetros hematológicos. El bazo se observó en tamaño y condiciones normales evidenciando restablecimiento del daño inmunológico ocasionado. Órganos como riñón e hígado no mostraron daños morfológicos. **Conclusiones:** el agua de mar isotónica resultó útil como terapia complementaria en los modelos experimentales, en casos de anemias causadas por dietas pobres en proteínas, vitaminas y minerales, y desencadenadas por medicamentos. MÉD.UIS. 2014;27(3):9-18.

Palabras clave: Agua de Mar. Anemia. Modelos Biológicos. Hematología. pH.

Valuation therapeutic seawater in experimental models as complementary therapy in anaemia

ABSTRACT

Introduction: the anaemia is a major public health worldwide, according to the World Health Organization worldwide affects 1620 million people in Latin America and the Caribbean 31% of the population has problems anemia's associated with deficient diets iron and related malnutrition. **Objective:** evaluating those therapeutic effects of isotonic seawater microfiltered to cold as complementary therapy in biological models with experimentally induced anaemia by poor diets in protein, vitamins and minerals, and by medicaments. **Materials and Methods:** they counted for eight weeks with 50 NMRI mice of both genders, adult - young age. Were divided into four experimental groups of 10 mice each, including a control group. Evaluated to the beginning and end of the experiment were the hematological parameters, salivary pH, copper and zinc. At the end of the experiment they were sacrificed by cervical dislocation and autopsied stops examine spleen, liver and kidney. **Results:** the experimental models under seawater intake relative to the group without sea water, independent of the type of induced anaemia, showed statistically significant differences ($p < 0.05$) with restoration of hematological parameters. The spleen was observed in size and showing restoration of normal immune damage caused. Organs such as kidney and liver showed no morphological damage. **Conclusions:** isotonic seawater useful as complementary therapy in experimental models, in cases of anemia caused by diets low in protein, vitamins and minerals, and triggered by medicament. MÉD. UIS. 2014;27(3):9-18.

Keywords: Seawater. Anaemia. Models, Biological. Hematology. pH.

¿Cómo citar este artículo?: Di Bernardo M, Castro A, Morales Y, Boueiri S, Brito S, Rondón C, et al. Valoración terapéutica del agua de mar en modelos experimentales como terapia complementaria en anemia. MÉD. UIS. 2014;27(3):9-18.

INTRODUCCIÓN

La anemia es un problema de salud pública a nivel mundial, según la Organización Mundial de la Salud afecta en todo el mundo a 1620 millones de personas (IC95%: 1500 a 1740 millones), lo que corresponde al 24,8% de la población (IC95%: 22,9% a 26,7%). La máxima prevalencia se da en los niños en edad preescolar (47,4%, IC95%: 45,7% a 49,1%), y la mínima en los varones (12,7%, IC95%: 8,6% a 16,9%). No obstante, el grupo de población que cuenta con el máximo número de personas afectadas es el de las mujeres embarazadas (468,4 millones, IC95%: 446,2 a 490,6 millones). En América Latina y el Caribe el 31% de la población presenta problemas de anemia asociadas a dietas deficientes de hierro y relacionada con malnutrición¹. Varios investigadores puntualizan que cuadros anémicos severos o prolongados son causa de muerte, de allí la urgencia médica de su diagnóstico y tratamiento adecuado²⁻⁴.

El agua de mar contiene numerosos elementos minerales, con conocidos efectos antioxidantes e inmunomoduladores, tales como silicio, selenio, hierro, calcio, magnesio, cobre y zinc, entre otros. Estos elementos están íntimamente implicados en muchos de los mecanismos que el sistema inmunológico utiliza habitualmente para llevar a cabo la mayor parte de sus funciones, tanto defensivas como homeostáticas. También contiene sodio y cloro, fundamentales para el normal funcionamiento

de todas las células del organismo, incluidas las células implicadas en la respuesta inmunológica. Se agrega, además, el *fitoplancton* captador principal de estos minerales, y el *zooplancton*, que se alimenta del *fitoplancton* y es considerado el principal generador de secreciones de otros elementos biodisponibles como azúcares, aminoácidos o vitaminas⁵⁻⁸. La terapia con agua de mar es una técnica de nutrición celular avalada por más de 100 años de clínica hospitalaria, durante los cuales se han puesto en marcha numerosos estudios que han permitido demostrar unos claros efectos beneficiosos para la salud, a distintos niveles, que podrían estar mediados en parte por distintas acciones sobre el sistema inmunológico.

Desde el punto de vista biológico se han llevado a cabo diferentes experimentos, en particular la medida de la actividad y de la supervivencia de glóbulos blancos en varios tipos de soluciones salinas. El tiempo de supervivencia de los glóbulos blancos en el agua de mar correctamente preparada es superior al observado en cualquier otro preparado mineral y el único medio en que los glóbulos blancos se han multiplicado. El plasma marino actúa como un todo, como una sinergia de todos los minerales, catalizando el metabolismo e induce el equilibrio mineral, regenerando el medio interno y es ahí donde se ve su acción sobre el glóbulo blanco, lo cual favorece la actividad celular y toda la economía del organismo se ve reforzada. Los ámbitos de aplicación

del plasma marino incluyen diferentes especialidades médicas, tales como inmunología, obstetricia, pediatría, dermatología, patologías digestivas e infecciosas, neurología, reumatología y estética⁹.

Se encontró que en América del Norte se está empleando para corregir diversos problemas de próstata, psoriasis, quemaduras, alopecia, artritis, osteoporosis, bronquitis, asma, gingivitis, problemas gastrointestinales o desequilibrios del sistema nervioso central, entre otras patologías. Incluso se ha demostrado su eficacia para tratar casos de drogodependencia, alcoholismo, hemofilia y como normalizador de las deficiencias nutricionales¹⁰⁻².

También se estableció que en Centroamérica es ampliamente utilizada como terapia complementaria en casos de desnutrición, diabetes, hipertensión arterial, problemas menstruales, infecciones y cuadros anémicos, entre otros, con excelentes resultados, reportando en algunos casos que han retirado por completo el medicamento. Es importante agregar que no se le realiza ningún tratamiento físico ni químico al agua recolectada, solo análisis microbiológico en el Ministerio de Salud, donde siempre sale libre de agentes tóxicos y patógenos¹³.

En América del Sur, Colombia y Ecuador la emplean en centros de medicina complementaria y “Dispensarios Marinos”; la recomiendan en casos de obesidad, diabetes, hipertensión arterial, trastornos gastrointestinales, infecciones, anemia, estados de cansancio, sinusitis, anorexia o desnutrición¹⁴. En Europa, España la emplea con éxito en diversas enfermedades y como suplemento nutricional para mejorar el performance de atletas de alta competencia^{8,15}.

Este trabajo es un aporte que abre camino a futuras investigaciones en el área médica, para seguir estudiando en humanos los posibles efectos benéficos del agua de mar. El agua de mar resultaría una terapia coadyuvante útil, accesible, de bajo costo y sin efectos secundarios para restablecer las condiciones de homeostasis necesarias para que el organismo reaccione adecuadamente y pueda superar mejor las patologías que le afecten. El objetivo de este artículo es inferir en las bondades terapéuticas del agua de mar en modelos experimentales con estados anémicos causados por deficiencia de hierro y desencadenadas por medicamentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron durante ocho semanas 50 modelos experimentales, específicamente ratones producidos y mantenidos en el Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA), de ambos géneros, edad adulto-joven, con pesos promedios iniciales de $31,8 \pm 3$ gramos. Los modelos experimentales son cepas Naval Medical Research Institute, USA (NMRI), estas cepas se caracterizan por ser no consanguíneas, con excelente capacidad reproductiva, promedios de crías/camada=9, útiles para comprender las causas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan al humano y a los animales, y en el desarrollo, producción y control de medicamentos, alimentos y otros insumos ya que en un 95% comparten pares genéticos representativos de la población humana, por eso son muy usados en toxicología y farmacología^{16,17}. Los ratones fueron divididos aleatoriamente en cuatro grupos experimentales subdivididos según terapia marina y cuadro anémico inducido y un grupo control, como se detalla en la Tabla 1.

El grupo control fue alimentado con ratarina Protinal® (alimento a base de proteínas crudas 26%, grasas crudas 2%, fibra cruda 6%, extractos libres de nitrógeno 40%, suplementada con vitaminas A, B₁, B₁₂, D₃, E, Ácido Pantenico, Biotina, Colina y Niacina, y minerales trazas Co, Cu, Fe, I, Mn y Zn), sometida a proceso calórico 121°C/1min y agua potable esterilizada “Ad Libitum”. El grupo A recibió una dieta pobre en hierro preparada y estandarizada en el laboratorio de la universidad, el grupo B cefalosporinas y ciclofosfamida a dosis calculadas por peso corporal cada seis horas. Los grupos experimentales se mantuvieron en ambientes climatizados, bajo las siguientes condiciones: alojados en áreas bajo barreras de ventilación y procedimientos estandarizados, temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, humedad relativa de 75%, con ciclos luz/oscuridad de 12 horas. El agua de mar administrada fue recolectada en playas del Parque Nacional Morrocoy, estado Falcón-Venezuela, sometidas a análisis físico-químicos, microbiológicos y procesos de microfiltración en frío. El experimento y los procedimientos fueron aprobados y avalados por el Comité de Bioética del BIOULA, para trabajos con animales experimentales bajo el protocolo CEBIOULA/040.

Tabla 1. Diseño experimental

Grupos	Condiciones experimentales	Observaciones
Control (n=10)	Alimento convencional y agua potable Ad-Libitum	Bajo condiciones normales
Experimental A (n=10)	Alimento deficiente en hierro y agua de mar isotónica Ad-Libitum	Anemia ferropénica inducida
Experimental A-1 (n=10)	Alimento deficiente en hierro y agua potable Ad-Libitum	Anemia ferropénica inducida
Experimental B (n=10)	Alimento convencional y agua de mar isotónica Ad-Libitum	Anemia medicamentosa inducida
		Nota: 5 ratones con cefalosporinas y 5 con ciclofosfamida
Experimental B-1 (n=10)	Alimento convencional y agua potable Ad-Libitum	Anemia medicamentosa inducida
		Nota: 5 ratones con cefalosporinas y 5 con ciclofosfamida

Fuente: Di Bernardo y colaboradores (Mayo-Julio, 2013).

Perfil nutricional, hematológico y bioquímico de los animales

Para analizar si la dieta pobre en proteínas, vitaminas y minerales como el hierro y el suministro de medicamentos estaban asociados al cuadro anémico, se evaluaron y compararon con el grupo control los niveles de hemoglobina, hematocrito, cuenta de glóbulos blancos, recuento diferencial, niveles de CuP y ZnP y pH salival.

Las muestras de sangre se obtuvieron vía retroorbital. Los parámetros hematológicos se midieron por técnicas bioanalíticas convencionales automatizadas y los bioelementos por espectroscopia de absorción atómica en llama acoplada a inyección a flujo continuo. Las medidas de pH mediante el uso de test rápidos. Los análisis se realizaron al inicio (semana cero) y final del experimento (semana ocho). Se realizaron autopsias para observar morfológicamente órganos tales como bazo, hígado y riñón.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron procesados en el paquete estadístico *Statistix for Windows*, expresados como promedios \pm desviaciones estándar. Las comparaciones entre los grupos fueron hechas usando el test *t* de *Student* para muestras

independientes. El promedio de los parámetros evaluados y de los grupos fueron comparados por ANOVA para medidas repetidas y por el test de Bonferroni (*post hoc test*). No se observaron diferencias significativas entre los medicamentos usados para inducir anemia hemolítica y los resultados finales, igual entre los géneros, por lo que los datos obtenidos se manejan como estadísticos descriptivos globales. El nivel de significancia considerado fue de un 5% ($p=0,05$).

RESULTADOS

La Tabla 2, muestra los resultados obtenidos en los ratones durante las ocho semanas experimentales. Los modelos bajo estudio mostraron un marcado compromiso de su sistema inmunológico, con cuadros anémicos severos, daños dérmicos marcados, piloerección, fragilidad capilar en boca, orejas y cola entre otros. Reportaron al inicio del estudio niveles de hemoglobina de $6,8 \pm 0,2$ gr /dl. El grupo control inició y culminó el ensayo con hemoglobina $12,5 \pm 3$ gr /dl, evidenciando diferencias altamente significativas con respecto al grupo enfermo ($p= 0,52$).

La Figura 1 muestra el comportamiento de los niveles de hemoglobina durante las ocho semanas experimentales, el grupo A con anemia ferropénica mostró resultados que permitieron inferir la bondad terapéutica del agua de mar en esta enfermedad.

Tabla 2. Efecto del agua de mar en la anemia inducida por dieta pobre en hierro y medicamentosa en los parámetros evaluados en los ratones

Columna 1	Grupos	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5
Parámetros	Control	A	A-1	B	B-1
Peso (gr)					
Tiempo=0	31,2 ± 3,0	26,5 ± 1,4	25,5 ± 2,4	24,5 ± 1,5	25,5 ± 1,0
Tiempo =8	33,5 ± 2,2	32,5 ± 2,5	28,5 ± 1,5	30,5 ± 0,5	27,5 ± 0,5
Hemoglobina(gr/dL)					
Tiempo=0	12,5 ± 2,0	6,7 ± 2,0	6,8 ± 1,5	6,7 ± 1,0	6,8 ± 1,0
Tiempo =8	12,8 ± 2,0	12,4 ± 2,0	6,0 ± 0,5	11,6 ± 1,5	6,0 ± 2,0
Hematocrito (%)					
Tiempo=0	36,5 ± 4,0	28,2 ± 1,5	28,5 ± 1,5	28,5 ± 1,5	27,5 ± 1,5
Tiempo =8	35,9 ± 3,0	33,5 ± 1,5	28,0 ± 1,5	30,5 ± 1,5	29,5 ± 1,5
Glóbulos blancos (mm3)					
Tiempo=0	9500 ± 400	2900 ± 250	2700 ± 400	2900 ± 450	2750 ± 400
Tiempo =8	9400 ± 450	8500 ± 450	6000 ± 350	8000 ± 350	5500 ± 250
Linfocitos (%)					
Tiempo=0	30 ± 2,0	18 ± 3,0	17 ± 1,0	15 ± 2,0	16 ± 4,0
Tiempo =8	30 ± 1,0	29 ± 2,0	19 ± 2,0	27 ± 3,0	18 ± 1,0
Eosinófilos (%)					
Tiempo=0	3,5 ± 0,5	7,0 ± 1,0	7,0 ± 0,5	8,0 ± 2,0	7,0 ± 0,5
Tiempo =8	4,0 ± 0,0	3,5 ± 0,0	7,0 ± 1,0	5,0 ± 1,0	7,0 ± 1,0
Neutrófilos (%)					
Tiempo=0	50 ± 5,0	30 ± 2,5	31 ± 0,0	30 ± 2,5	30 ± 2,0
Tiempo =8	50 ± 4,0	47 ± 0,0	28 ± 1,0	40 ± 3,0	26 ± 0,5
Basófilo (%)					
Tiempo=0	1,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Tiempo =8	1,5 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
pH salival					
Tiempo=0	7,5 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
Tiempo =8	7,5 ± 0,0	7,5 ± 0,0	6,5 ± 0,0	7,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
Cobre (mg/L)					
Tiempo=0	1,6 ± 0,5	0,9 ± 0,03	0,8 ± 0,01	0,85 ± 0,04	0,85 ± 0,03
Tiempo =8	1,5 ± 0,4	1,3 ± 0,04	0,9 ± 0,02	1,0 ± 0,05	0,89 ± 0,02
Zinc (mg/L)					
Tiempo=0	0,94 ± 0,12	0,55 ± 0,01	0,5 ± 0,02	0,6 ± 0,02	0,5 ± 0,01
Tiempo =8	0,95 ± 0,0	0,85 ± 0,0	0,65 ± 0,0	0,75 ± 0,04	0,5 ± 0,0

Tiempo (semanas), A (anemia ferropénica con agua de mar), A-1 (anemia ferropénica sin agua de mar, B (anemia medicamentosa con agua de mar) y B-1 (anemia medicamentosa sin agua de mar)

Fuente: Autores

El grupo A se equiparó con el grupo control, sin observar diferencias significativas ($p=0,001$). Sin embargo, el grupo B con anemia inducida por medicamentos,

aún respondiendo satisfactoriamente a la terapia marina, no logró equipararse al grupo control, con diferencias altamente significativas ($p= 0,52$ y

0,15, respectivamente) con respecto a los grupos experimentales A-1 y B-1 (sin agua de mar) y con un $p=0,09$ con respecto al grupo control. Los grupos experimentales sin agua de mar (A1 y B1) observaron un 20% de mortalidad y culminaron el experimento con niveles de hemoglobina de $6,5 \pm 0,94$ y $6 \pm 0,54$ gr/dl, respectivamente. Los daños observados en piel y la fragilidad capilar evolucionaron satisfactoriamente en los grupos A y B. Cabe destacar que los grupos experimentales sin agua de mar, mostraron pérdida creciente de peso, entre un 10-20% con respecto a los grupos A y B, y control (Ver Figura 2). El hematocrito arrojó valores promedios iniciales de 28 ± 4 %, en los grupos experimentales, y de 36 ± 5 % en el grupo control, los bajos niveles de hematocrito están en concordancia con la hemoglobina, indicando un cuadro anémico^{2,3,18}. Estos valores al final de la experiencia mostraron igual tendencia que la hemoglobina, equiparándose al grupo control.

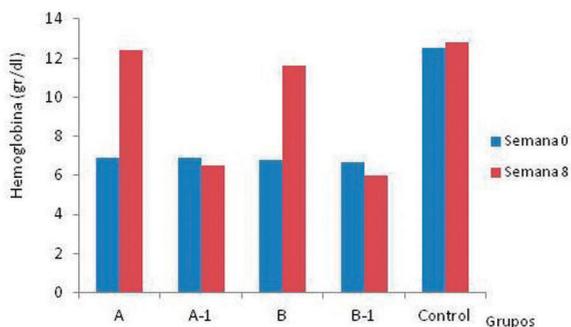


Figura 1: Efecto del agua de mar en la hemoglobina de los biomodelos ensayados con respecto al grupo de control.

Fuente: Di Bernardo y colaboradores (Mayo - Julio, 2013)

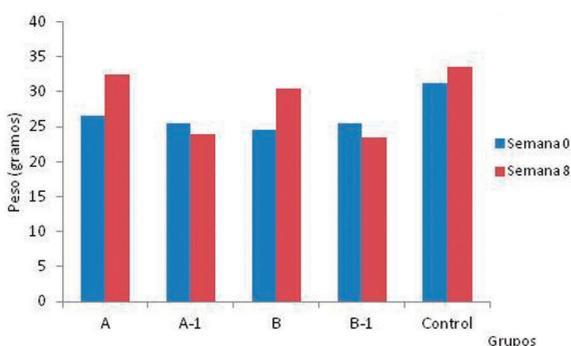


Figura 2: Efecto del agua de mar en el peso corporal de los biomodelos ensayados con respecto al grupo de control.

Fuente: Di Bernardo y colaboradores (Mayo - Julio, 2013)

Los glóbulos blancos, evidenciaron una leucocitosis en los animales de los grupos experimentales, con niveles por debajo de 3000 por μL . Esta fue compensada por el agua de mar, llegando la cuenta al final de la experiencia entre 7000-8000 por μL , en los

grupos bajo ingesta de agua de mar, y comparándose con el grupo control (9500 por μL). El recuento diferencial de blancos (linfocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos) arrojó presencia de procesos infecciosos o alérgicos, este comportamiento a la semana ocho fue revertido satisfactoriamente en los grupos bajo ingesta de agua de mar.

La anemia es un signo claro que evidencia que la sangre tiene menos glóbulos rojos de lo normal, es decir, los glóbulos rojos no contienen suficiente hemoglobina. La hemoglobina es una proteína rica en hierro que le brinda a la sangre el color rojizo. Esta proteína les permite a los glóbulos rojos transportar el oxígeno de los pulmones al resto del organismo. Si este no recibe suficiente sangre rica en oxígeno, como resultado, se produce astenia^{2,18}. Para evaluar este síntoma se les monitoreó aleatoriamente durante toda la fase experimental su actividad locomotora horizontal y vertical, mediante sistema automatizado por diez minutos, mostrando una clara disminución de su actividad al inicio y con franca recuperación a la semana seis los grupos bajo ingesta de agua de mar, lo que indicó recuperación del estado de astenia o adinamia presentado (Ver Figura 3 y 4).

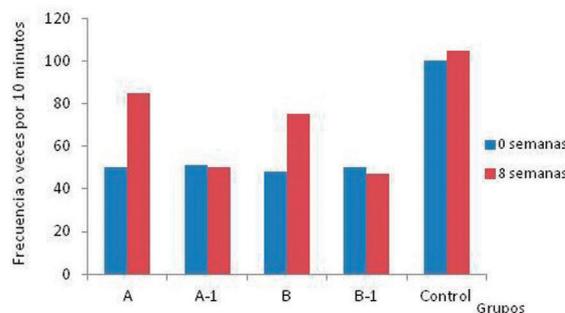


Figura 3: Evaluación de la actividad locomotora vertical

Fuente: Di Bernardo y colaboradores (Mayo - Julio, 2013)

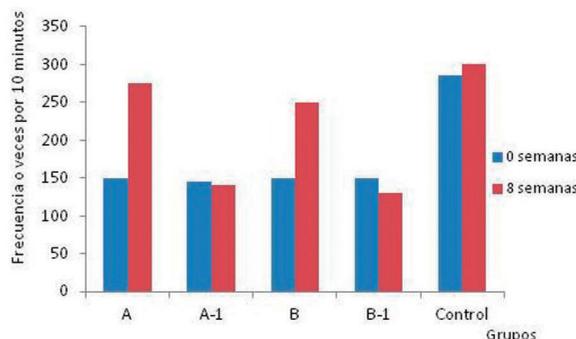


Figura 4: Evaluación de la actividad locomotora horizontal

Fuente: Di Bernardo y colaboradores (Mayo - Julio, 2013)

Otro parámetro evaluado fue la relación CuP-ZnP, la cual es una razón matemática que se emplea en la actualidad en el diagnóstico y pronóstico de diversas situaciones clínicas, así como para evaluar la respuesta de estas a los tratamientos aplicados. En diversos procesos patológicos habitualmente se cuantifican las concentraciones plasmáticas de CuP o ZnP de manera individual. En estos procesos, con pocas excepciones, se encuentra un incremento en el cobre y una disminución simultánea en los niveles de ZnP. Sin embargo, la relación CuP/ZnP no ha sido evaluada en la gran mayoría de las enfermedades, aun cuando ésta se modifica más drásticamente que las concentraciones individuales del CuP y del ZnP.

El CuP y el ZnP son elementos que se encuentran en pequeñas cantidades en el organismo para intervenir en su metabolismo. Estos elementos químicos, en su mayoría metales, son esenciales para el buen funcionamiento de las células. Es muy importante mantener estos elementos químicos en sus valores y concentraciones normales, ya que las células son permanentemente atacadas por el estrés, el cansancio, los disgustos y las enfermedades¹⁹⁻²¹.

Este estudio corrobora que la razón matemática CuP-ZnP es una herramienta clínica útil de pronóstico y diagnóstico en cuadros anémicos. La relación CuP/ZnP presentada en los grupo A y B, permiten observar que al final de la experiencia los grupos con terapia marina mostraron tendencias que se compararon con el grupo control (Ver Tabla 3 y Figura 5). Esta tendencia fue más significativa en el grupo A con un p= 0,04. Este resultado permite asumir que el agua de mar mostró clara disposición de reversión del cuadro anémico causado por deficiencia de hierro, en la anemia medicamentosa aunque los resultados fueron satisfactorios, los parámetros evaluados no se equipararon al grupo control.

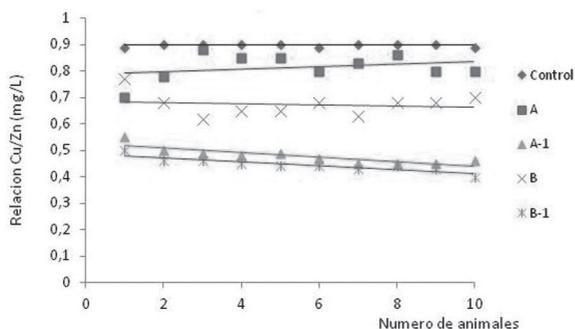


Figura 5: Evolución de la relación cobre/zinc en los grupos experimentales
Fuente: Di Bernardo y colaboradores (Mayo - Julio, 2013)

Este trabajo adicionalmente evaluó el pH salival de los ratones. Se conoce que pH ácidos impiden la absorción de nutrientes y minerales disminuyendo la producción de energía en las células y por consiguiente la habilidad de desintoxicación, las células de tumores se fortalecen, y el cuerpo se hace más susceptible a la fatiga y las enfermedades. Un pH ácido puede ocurrir por una dieta ácida, estrés emocional, intoxicación o reacciones inmunológicas que depraven a las células de oxígeno y otros nutrientes. El cuerpo tratará de compensar este pH ácido usando minerales alcalinos, el agua de mar por su gran cantidad de iones y sales presenta un pH alcalino entre 8,2 y 8,4. Este pH, refieren los investigadores^{18,22-4}, es prácticamente igual al que presenta plasma corporal humano, entre 7,4 a 8. Por este motivo la sangre, lágrimas, orina y mucosidades son saladas.

Tabla 3. Relación Cobre-Zinc

Grupo	Relación cobre/ zinc (mg/L)
Control (C)	0,89 ± 0,04
A (Anemia ferropenia-agua de mar isotónica)	0,82 ± 0,05
A-1 (Anemia ferropenia- sin agua de mar isotónica)	0,48 ± 0,03
B (Anemia medicamentosa-agua de mar isotónica)	0,67 ± 0,04
B-1 (Anemia medicamentosa- sin agua de mar isotónica)	0,45 ± 0,02

Fuente: Autores (Mayo-julio, 2013).

La evaluación inicial del pH a nivel de la saliva de los ratones se encontró entre 7,5 y 7,8 unidades de pH. Al inducir los cuadros anémicos se observaron tendencias ácidas (5-6 unidades de pH); sin embargo, el grupo A y B a la sexta semana mostró pH con tendencias alcalinas con valores de 7,5 en consonancia con el grupo control. Al final del experimento el grupo A alcanzó 8 unidades de pH.

Las observaciones histológicas a los órganos tales como hígado, bazo y riñón, no mostraron daños morfológicos en los ratones bajo ingesta de agua de mar; sin embargo, al comparar el tamaño del bazo de los grupos sin ingesta de agua mar, se observó un tamaño superior (2-3 cm) no correspondiente con el tamaño observado en el grupo control, ni los grupos con terapia marina (1,5 cm en ambos). Los grupos A-1 y B-1 mostraron una marcada esplenomegalia, producida por los cuadros anémicos inducidos.

Este hallazgo evidencia deterioro del sistema inmunológico. Estos resultados permiten asumir que el agua de mar resulta útil, beneficiosa y sin efectos secundarios en enfermedades que cursen con compromiso del bazo.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran en concordancia con lo reportado por otros autores. El efecto observado en el aumento de peso ha sido referenciado por Gracia, Sempere, Kimata, Tsuchiya y recientemente Di Bernardo y colaboradores han comunicado que el agua de mar es útil en estados nutricionales carenciales con pérdida de peso o desnutrición. El agua de mar en su composición química posee los elementos minerales esenciales que con un efecto sinérgico catalizan el metabolismo induciendo el equilibrio mineral y regenerando el medio interno^{18,25-9}.

Se ha documentado que dietas pobres en hierro o deficientes en minerales son causantes de anemia, así como el uso de medicamentos tipo antibióticos por tiempos prolongados, razón por la que se recomienda hábitos alimenticios balanceados y ricos en minerales y proteínas. Sin embargo, existen limitantes económicas y sociales que impiden alimentaciones adecuadas y balanceadas, lo que trae como consecuencia desnutrición y anemia. Varios investigadores puntualizan que cuadros anémicos severos o prolongados son causa de muerte sobre todo en infantes y embarazadas, de allí la urgencia médica de su diagnóstico y tratamiento adecuado¹⁻⁴. En Centro América, Teresa Hilari, médica internista dirige el primer “Dispensario Marino” en la Clínica Santo Domingo (Nicaragua), refiere que la utilizan ampliamente como terapia complementaria en casos de desnutrición, diabetes, hipertensión arterial, problemas menstruales, infecciones y cuadros anémicos, entre otros, con excelentes resultados, reportando en algunos casos que han retirado por completo el medicamento¹³. Guatemala y México, a través de la Fundación española OMDIMAR, también implementaron “Dispensarios Marinos” y cumplen con éxito terapias en variadas patologías clínicas³⁰. Lo singular es que a pesar de que esta terapia ha demostrado científicamente su capacidad para curar y prevenir enfermedades, en la actualidad su uso no es más que como complemento dietético. Los médicos Montserrat Palacin y Ángel Gracia^{8,18}, exponen que esto se debe “probablemente a que las trasnacionales farmacéuticas desviaron su interés

hacia los nuevos específicos de moda”. Y este método tan simple, ampliamente probado y exento de efectos secundarios se dejó de lado por desidia. En este sentido Laureano Domínguez Ruiz¹⁹, escritor, periodista e investigador colombiano, sugiere que es necesario continuar con las investigaciones de René Quinton, considerado el padre de la terapia marina, a la luz de los últimos paradigmas científicos, que bien podrían revolucionar los campos de la medicina y la biología. Domínguez enfatiza en la necesidad de actualizar los experimentos básicos de Quinton a fin de rescatar sus aportaciones del olvido.

Este trabajo permitió observar que el agua de mar presenta efectos beneficiosos sobre los parámetros hematológicos evaluados, revirtiendo los cuadros anémicos presentados en los animales experimentales, cabe destacar que la anemia ferropénica inducida respondió satisfactoriamente a las seis semanas a la terapia marina; sin embargo, la anemia inducida por medicamentos presentó mejoría, pero los modelos experimentales no alcanzaron los valores normales, por lo que se asume que las mismas necesitan un mayor tiempo de tratamiento. Estudios contundentes hacen falta para corroborar esta aseveración y se encuentran en curso por parte de esta unidad de investigación.

Las observaciones presentadas a través de este estudio, ya han sido reportadas anteriormente por otros investigadores quienes informaron resultados en humanos y animales experimentales que permiten recomendar el uso del agua de mar para mantenimiento electrolítico de la química sanguínea. Además, reseñan que el agua de mar es útil para reactivar el sistema inmunológico; a su vez hay quienes describen que el agua de mar isotónica presenta identidad fisiológica con el plasma sanguíneo humano, siendo capaz de activar el sistema hematopoyético, aún en anemia severas^{10,13,20}.

Las evaluaciones del pH salival demostraron que el agua de mar tiene la capacidad de mantener el medio alcalino, es conocido que un medio alcalino es necesario para absorber nutrientes y minerales, además de garantizar la integridad celular y con él la dificultad de instaurarse enfermedades. Los resultados obtenidos están en concordancia con lo planteado por otros investigadores quienes refieren que el agua de mar en casos de compromiso o daño de la integridad celular es una terapia complementaria coadyuvante, que tiene la capacidad de compensar pH ácidos a nivel intracelular y extracelular, usando

los minerales alcalinos presentes en la misma, lo que resulta de gran utilidad en enfermedades que por su etiología impidan absorber-fijar minerales y nutrientes^{23,31-5}.

En este sentido, Silva y Young refieren que tomar agua de mar contribuye a aumentar la alcalinidad y consecuentemente se dificulta el desarrollo de los agentes patógenos^{23,24}. Existen grandes preocupaciones en el mundo sanitario por la anemia, enfermedad que según la Organización Mundial de la Salud es causante de muertes, por ello se hace necesario buscar terapias complementarias con grandes beneficios y sin efectos adversos; por lo que el agua de mar representaría una terapia útil en cuadros anémicos producto de dietas pobres en nutrientes y minerales.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este estudio indicó que el agua de mar resulta una terapia complementaria útil en cuadros anémicos, de bajo costo, accesible y sin efectos colaterales. Los modelos experimentales demostraron que el agua de mar actúa positivamente en los parámetros hematológicos comprometidos en el desarrollo de estados anémicos, mantiene el pH alcalino, lo que facilita la absorción de vitaminas, minerales y nutrientes. El agua de mar compensó la pérdida de los elementos CuP y ZnP, elementos esenciales e íntimamente ligados al sistema inmunológico, adicionalmente restauró la fragilidad capilar y daños dérmicos manifestados en los grupos experimentales. El agua de mar no causó daños morfológicos a órganos tales como riñón, hígado y bazo, al contrario, a nivel del bazo fue capaz de revertir la esplenomegalia.

Es importante resaltar que el uso del agua de mar como terapia coadyuvante en diversas patologías debe hacerse bajo supervisión y previa evaluación médica. Se hace necesario realizar extrapolaciones en humanos con la finalidad de afianzar los resultados aquí obtenidos. Estos deben ser de carácter interdisciplinarios y apoyándose en investigaciones comparadas.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses para la publicación de este manuscrito.

DECLARACIONES ÉTICAS

La presente investigación fue realizada acorde con la legislación internacional y protocolos de investigación y docencia que involucran animales de laboratorio. Se contó con el aval de la Comisión de Bioética del Bioterio de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, registrado bajo el número CEBOIOLA /040, de fecha 03 de abril del 2013.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. Base de datos mundial sobre la anemia de la OMS, Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2008.
2. Goldman L, Schafer AI. Cecil Medicine. 24th ed. Philadelphia PA: Saunders Elsevier; 2011: chap 161.
3. Bagby GC. Leukopenia and leukocytosis. In: Goldman L, Ausiello D, eds. Cecil Medicine. 23rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007: chap 173.
4. Dinuer MC, Coates TD. Disorders of phagocyte function and number. In: Hoffman R, Benz EJ Jr, Shattil SJ, et al. Hoffman Hematology: Basic Principles and Practice. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2008: chap 50.
5. Anemia un problema que se acentúa en la ruralidad. Disponible: <http://www.vanguardia.com/vida-y-estilo/salud/222106-anemia-un-problema-que-se-acentua-en-la-ruralidad>. Consultado: Noviembre, 2013.
6. Arnal M. La filología clásica al nauturismo (folleto). Fundación Aquamaris. Instituto de Hidrología y Climatología Médicas de Canarias; Canarias; 2011.
7. Laboratoires Quinton International S.L. Almoradí (CE). Disponible en: www.quinton.es. Consultado: 10 enero de 2013.
8. El agua de mar cura diversas enfermedades. MD Monserrat Palacin. Disponible: <http://www.dsalud.com/index.php?pagina=articulo&c=965>. Consultado: julio 2013.
9. Philippe Goeb. Plasma marino y plasma humano. Su identidad fisiológica de cara a la regeneración del medio interior. Aplicación terapéutica. (Folleto), segunda edición. 2011.
10. Carrel, A. Suture of Blood-Vessels and Transplantation of Organs. Disponible: <http://www.nobel.se/medicine/laureates/1912/carrel-lecture.html>. Consultado: junio de 2013.
11. Carrel, A. Nobel Lectures, Physiology or Medicine. Elsevier Disponible: <http://www.nobel.se/medicine/laureates/1912/carrel-bio.html>. Consultado: junio de 2013.
12. Seawater Therapies. Ocean water has many inexpensive and efficacious therapeutic uses. Canadá. 2012.
13. Agua de mar: Dispensarios Marinos, experiencia en Nicaragua y Guatemala. Disponible: <http://www.unmundodebrotes.com/2013/04/agua-de-mar-entrevista-a-la-dra-maria-teresa-ilari>. Consultado: octubre 2013.
14. El agua de mar es la solución de muchas patologías. Disponible: <http://www.dsalud.com/index.php?pagina=articulo&c=153>. Consultado: septiembre 2013.
15. Agua de mar y deportes. Experiencias médicas Laboratorios Quinton-España. Disponible: <http://www.portalesmedicos.com/medicina/noticias/12013/1/>. Consultado: agosto 2013.
16. Ruiz García M; Álvarez D. Evolución comparada de genomas animales y su relación con el genoma humano. En El genoma humano. Editorial Panamericana: Bogotá; 2002.
17. Bioterio de la Universidad Central Lisandro Alvarado. Disponible: <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/bioterio/animales.htm> Consultado: febrero 2014.
18. Gracia, A, Bustos H. El Poder curativo del agua de mar: Nutrición orgánica. 2nda ed. Editorial Morales i Torres: España; 2005.
19. La cura marina y el plasma de Quinton: Laureano Domínguez rescata y promueve los Dispensarios Marinos para restablecer la memoria celular y recobrar la salud. Disponible: <http://www>

- mind-surf.net/dfir/page5.html. Consultado: julio 2013.
20. Suárez MF, Ordoñez JE, Aguilar de Plata C. Dietary zinc intake is inversely associated to metabolic syndrome in male but not in female urban adolescents. *Am J Hum Biol.* 2013;25(4):550-54.
 21. Thomas B, Gautam A, Prasad B R, Kumari S. Evaluation of micronutrient (zinc, copper and iron) levels in periodontitis patients with and without diabetes mellitus type 2: A biochemical study. *Indian J Dent Res.* 2013;24(4):468-73.
 22. Gatenby R, Gawlinski E, Gmitro A, Kaylor B, Gillies R. Acid Mediated Tumor Invasion: a Multidisciplinary Study. *Cancer Res.* 2006;66(10):5216-23.
 23. Silva A, Yunes J, Gillies R, Gatenby R. The Potential Role of Systemic Buffers in Reducing Intratumoral Extracellular pH and Acid-Mediated Invasion. *Cancer Res.* 2009;69(6):2677-84.
 24. Young R, Redford S. La Milagrosa Dieta del pH. Ediciones Obelisco – Edición traducida al español. 2012.
 25. Sempere JM. 2º Congreso Europeo de Inmunología, inmunidad de por vida - Estudio sobre actividad inmunomoduladora de la solución isotónica e hipertónica Quinton en células humanas de sangre periférica. *Inmunología de la Salud.* 2012.
 26. José Miguel Sempere. Estudio del efecto/s de la ingesta diaria de Quinton Hipertónico sobre la tensión arterial. *Salud y agua de mar: Nuevos Horizontes terapéuticos.* Disponible: <http://www.herbogeminis.com/IMG/pdf/boletin12.pdf>. Consultado: octubre 2013.
 27. Kimata H, Tai H, Nakagawa K, Yokoyama Y, Nakajima H, Ikegami Y. Improvement of skin symptoms and mineral imbalance by drinking deep sea water in patients with atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS). *Act Medical.* 2002;45(2):47-73.
 28. Tsuchiya Y, Watanabe A, Fujisawa N, Kaneko T, Ishizu T, Fujimoto, Nakamura K, Yamamoto M. Effects of desalted deep seawater on Hematologic and blood chemical values in mice. *Tohoku J. Exp. Med.* 2004;203(3):175-82.
 29. Bernardo M, Castro A, Araque J, Osorio A, Andueza F Boueiri S, Brito S, Rondón C, Morales Y, De Jesús R, Ortiz R. Evaluación de la calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica del agua de mar como suplemento nutricional en modelos biológicos. *Revis. Toxicol.* 2014; 42.
 30. Pozas P, Taragaza E. Oasis y dispensarios Marinos. ONDIMAR: España; 2012.
 31. Soler TR, Velásquez N, Miranda LF, Zuluaga DC. Ausencia de genotoxicidad del agua de mar de Coveñas: estudio in vitro en eritrocitos y leucocitos humanos. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública.* 2005;23(2):25-30.
 32. Mahé A. El Plasma de Quinton: El agua de mar, nuestro medio interno. *Icaria Milenrama: Barcelona;* 2009.
 33. Quinton R. *L'eau de mer milieu organique. Constance du milieu marin* comme milieu vital des cellules, a travers la série animale. 39.a ed. Editions Encre : Paris; 1995.
 34. El Agua de Mar se presenta como una alternativa complementaria en el tratamiento de la aterosclerosis. Disponible: <http://www.portalesmedicos.com/noticiasmedicas>. Consultado: noviembre 2013.
 35. Gaviña G. *Dieta Alcalina: Un Método Natural.* Edición Kindle; 2013.