

INVESTIGACIÓN SOBRE EL EFECTO DEL CONSUMO DE AGUA DE MAR EN HUMANOS

(Informe de la Ponencia presentada en el VII Encuentro Internacional del agua de mar. Usos nutricionales y terapéuticos. Agosto 2006). Esta investigación ha obtenido el Premio Nacional en el área de Ciencias Médicas de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas.

Dr. Wilmer Soler, Presidente Académico del Encuentro.

AUSENCIA DE TOXICIDAD POR INGESTA DE AGUA DE MAR NATURAL

¹Wilmer Soler T. Bioquímico MSc.

¹Jaime A Pérez G. MD. Deportólogo. Coordinador médico

¹Luz E Penagos G. MD. Gastroenteróloga

¹Germán Osorio S. MD. Patólogo

²Nelly del C Velásquez E. Bióloga

³Jamel A Henao C. MD. Director del Hospital de La Ceja

³Norma L Muñoz C. MD.

³Oscar A Zapata O. MD.

³José H Gallego F. MD.

⁴María E Marquez F. Bióloga MSc.

⁴Andrés Pareja L. Estudiante MSc.

⁴Juliana Soler A. Estudiante

⁵Dorian J Anaya L. MD. Endoscopista

⁴Jakeline Hernández E. Bacterióloga

⁴Dioneris Arellano C. Bacterióloga

⁴María B Durango R. MD.

⁴Edna Valiente C. Enfermera

Cualquier comunicación dirigirla al coordinador del estudio: Wilmer Soler T. E-mail: wsoler@quimbaya.udea.edu.co

1. Profesores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia
2. Bióloga egresada de la Universidad de Antioquia
3. Médicos del Hospital de La Ceja
4. Profesora y estudiantes de la Universidad Nacional-Sede Medellín
5. Fundación Proboquilla de Cartagena de Indias

RESUMEN

Se realizó un estudio de intervención antes-después en 32 adultos con gastritis, durante cinco meses, con ingesta de agua de mar; con el fin de evaluar la posible toxicidad. Ningún paciente presentó empeoramiento de las variables clínicas evaluadas, pero sí mejoría de la epigastralgia en la totalidad de los pacientes; a pesar de este resultado, no se presentaron cambios en el estudio anatomopatológico de la gastritis, ni en la presencia de *Helicobacter pylori*. El peso y la presión arterial se mantuvieron estables. En el monograma, el Magnesio presentó un aumento significativo (1.65 ± 0.8 contra 1.91 ± 0.44). Se presentaron aumentos de las cifras de eritrocitos (4.6 ± 0.4 contra 4.9 ± 0.4 M/ μ l, $p=0.000001$), hematocrito (39.2 ± 4.0 contra $40.9 \pm 3.9\%$, $p=0.0059$), bilirrubina directa (0.079 ± 0.067 contra 0.122 ± 0.103 mg/dl, $p=0.0153$); y transaminasa AST (17.4 ± 6.9 contra 22.0 ± 7.4 U/l, $p=0.0026$). En la genotoxicidad sobre linfocitos se observó un aumento leve pero significativo en el momento de Olive (0.78 contra 1.98 , $p=0.0005$). Conclusión: no se presentó toxicidad por la ingesta de agua de mar, dado que los cambios en las variables sanguíneas estuvieron dentro de los intervalos de normalidad y pueden estar indicando un recambio celular; por el contrario se observó mejoría de la epigastralgia; no obstante, es importante evaluarlas en individuos que han ingerido el agua de mar por más de un año.

INTRODUCCIÓN

Las propiedades terapéuticas del agua de mar se conocen desde los orígenes de la cultura occidental. (1) En nuestra época reciente, la ingesta de agua de mar (AM) en humanos se viene realizando desde hace unos 100 años, a partir de los trabajos del fisiólogo francés Rene Quinton y colaboradores sobre las propiedades nutricionales y terapéuticas, lo que a su vez dio paso a la creación de los dispensarios marinos en Francia, Inglaterra y Egipto, lugares donde se aplicó por vía subcutánea, previa filtración y dilución. Con su uso se contribuyó en el control de la desnutrición y toda clase de enfermedades infecciosas, gastrointestinales respiratorias y de la piel, (2,3,4,5) entre otras. Se debe recordar que en esta época no existían los antibióticos y se utilizó el AM como nutriente celular al fortalecer el medio interno o líquidos extracelulares. Entre las propiedades del agua de mar, se ha destacado su contenido de electrolitos en proporción relativa, semejante a la de los líquidos fisiológicos de diversas especies animales. y el contenido de oligoelementos esenciales en la nutrición humana. (6)

Investigaciones recientes en Japón y Europa han mostrado las propiedades terapéuticas del AM en diversos trastornos de humanos y animales, como dermatitis, eczema, inbalance mineral, (7) disminución de metales pesados tóxicos, rinitis alérgica (8) y en la presión arterial, (9) hiperlipidemia y aterosclerosis. (10,11) El AM utilizada en estos estudios es comercial, sometida a refinamiento por filtración o diálisis. También se han estudiado los principios activos como antibióticos, antiinflamatorios, antitumorales, entre otros, sintetizados por las bacterias marinas; además de las propiedades nutricionales del plancton, en el cual se le han detectado 23 elementos traza. (12,13)

En Colombia se viene utilizando el AM como recurso terapéutico desde hace unos 18 años en el Centro Integral de Talasoterapia en Coveñas, especialmente como baños; pero el consumo oral como complemento nutricional se implementó desde hace unos cinco años, debido al trabajo de las fundaciones Aquamaris y Prodimar, con sede en Barcelona, (14) que han difundido la obra de Rene Quinton, han creado dispensarios marinos en diversos países y han apoyado la investigación científica sobre el AM. En consecuencia, diversos grupos humanos en el país se han organizado para mantener un suministro gratuito de agua con fines de consumo humano y animal. El agua que se está consumiendo, principalmente por vía oral, se obtiene de sitios alejados de las playas a unos 5 Km., en algunos lugares se extrae de profundidad entre 10 y 20 m., y en playas más limpias se está obteniendo de la orilla. No obstante, la gran capacidad equilibradora y depuradora del mar, (15) con estas medidas se busca evitar los riesgos de contaminación de las playas turísticas y aguas dulces contaminadas (16) y con el fin de tener mayor bioseguridad en estas prácticas, se realizan los análisis microbiológicos del agua de mar que se transporta en recipientes plásticos.

Dado el consumo creciente del AM natural, sin ningún tipo de refinamiento ni esterilización, en varios países iberoamericanos, es muy importante para la comunidad académica y no académica considerar los posibles riesgos del consumo en su forma natural, cuya concentración de sales es aproximadamente tres veces mayor con respecto al plasma sanguíneo y por otra parte, los riesgos de polución química y microbiológica en el AM, por los desechos domésticos y agroindustriales vertidos en las costas. (16,17) Aunque hay poderosos mecanismos homeostáticos renales, nerviosos y hormonales que regulan el equilibrio hidroelectrolítico, (18) la ingesta de AM hipertónica puede en teoría producir alteraciones de la presión arterial y acumulación de líquidos en los compartimientos fisiológicos; en particular si estos mecanismos presentan fallas.

Dadas las propiedades del AM, por un lado beneficiosas por su contenido de minerales, elementos traza biodisponibles y otra serie de sustancias biológicamente activas; (13) y por otro lado, los posibles riesgos para la salud, debido a la hipertonidad (hasta ahora desconocidos en las prácticas milenarias y actuales de su consumo en los dispensarios marinos); y la posible contaminación química por vertidos domésticos y agroindustriales con acción genotóxica, los cambios en el estado de oxidación de algunos minerales, generadores de radicales libres; y la posibilidad de provocar procesos infecciosos o inflamatorios, en especial del sistema gastrointestinal, es muy importante realizar evaluaciones clínicas, fisiológicas y bioquímicas en los consumidores de AM natural.

Con este estudio se buscó obtener información científica para despejar dudas sobre la bioseguridad del consumo de AM sin procesar y posteriormente continuar con investigaciones de intervención en humanos, las que finalmente podrán estimular el uso masivo de este recurso natural, nutritivo y terapéutico; que además, es de fácil acceso para la población. Lo anterior puede tener repercusiones en la salud general de la población colombiana y otros grupos humanos y de animales, como se ha podido observar en la historia antigua y actual de los dispensarios marinos, en los que ha sido posible disponer el AM de forma gratuita. El objetivo de este estudio fue evaluar la posible citotoxicidad y genotoxicidad del agua de mar en linfocitos de sangre periférica y medir indicadores de

alteración gástrica, intestinal, hepática, renal, hematológica y PA en personas con gastritis y/o duodenitis, que *motu proprio* estuvieron dispuestas a consumirla, durante cinco meses continuos.

METODOLOGÍA

Población. Estudio experimental (antes-después), en 32 adultos (29 mujeres y 3 hombres), con gastritis y/o duodenitis, sin tratamiento médico, que consumieron por vía oral entre 0.7 y 5.0 litros semanales de agua de mar natural, durante 5 meses continuos. Los voluntarios fueron residentes de Medellín, La Ceja y Cartagena, ciudades donde se realiza esta práctica de manera regular. Se excluyeron del estudio los pacientes que: tenían menos de 18 años de edad o mayores de 75 años, embarazo, lactancia, alergia, enfermedad concomitante severa, abuso de alcohol, drogadicción, ingesta de esteroides o no esteroides (AINES), alteraciones conocidas del perfil hepático, y la no firma del consentimiento informando. Estas exclusiones permitieron involucrar sujetos autónomos (edad), y evitaron sesgos en las variables que se pudieron afectar por el consumo de agua de mar. A los pacientes se les explicó ampliamente sobre las condiciones y objetivos del estudio y se obtuvo el consentimiento escrito. De cada voluntario se elaboró una historia clínica y un examen médico general que incluyó antecedentes personales y familiares de problemas de salud y el estado actual. La información se registró antes y al final del estudio, en un formato en el que se incluyó el dato de consumo de agua de mar. Una vez finalizadas las evaluaciones bioquímicas y fisiológicas, se entregó por escrito a cada participante los resultados y recomendaciones; y al terminar la investigación se les informó sobre las conclusiones. El proyecto se sometió a evaluación técnica y ética por parte del Centro de Investigaciones Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia.

Endoscopia digestiva superior. Se realizó con toma de biopsia para análisis anatomopatológico y determinación de *Helicobacter pylori*; se hizo en condiciones de ayuno de seis horas, al inicio del estudio y 12 horas después de la última ingesta de AM, al finalizar el mismo; para lo cual se utilizó medicación con xylocaina en aerosol al 2% sin epinefrina, para disminuir el reflejo nauseoso, en pacientes muy ansiosos se utilizó midazolam intravenoso para facilitar el procedimiento. Con un endoscopio Olympus Gift XQ10 se practicó una maniobra de retroflexión para evaluar la zona cardial y subcardial. Los procedimientos se realizaron en el servicio médico de la Universidad de Antioquia y en el Centro de salud de la Boquilla en Cartagena de Indias, siguiendo estrictas normas de asepsia y antisepsia, según la Asociación Norteamericana de Gastroenterología. Anexo a la sala de endoscopia había una unidad de atención prioritaria para recuperar al paciente sedado o atender cualquier complicación si se presentase. La información de la endoscopia se consignó en un formato.

Variables sanguíneas. Para las evaluaciones en sangre venosa se tomó una muestra de 15 ml, de 7 a 8 de la mañana en condiciones de ayuno de 12 horas y también 12 horas a partir de la última toma de AM. La muestra se depositó en un tubo de ensayo con EDTA, se tomó una alícuota para la determinación de hemograma, el resto se separó por centrifugación a 2000 r.p.m. y el plasma se repartió en viales de un mililitro, para la determinación de

ionograma, glucosa, tiempo de protrombina, enzimas transaminasas (ALT y AST), como indicadores de función hepática; medición de concentración de creatinina y el BUN, como indicadores de función renal.

Prueba de genotoxicidad. Para determinar el efecto genotóxico del agua de mar en el ADN de linfocitos se utilizó la técnica SCGE (single cell gel electrophoresis) o ensayo cometa, según el protocolo descrito por Singh N. et al. (19) Se suspendieron en amortiguador PBS entre 5000 y 50000 linfocitos aislados de sangre total, por el método de centrifugación en un gradiente de densidad de Ficoll. Se utilizó como control positivo la incubación de las células con peróxido de hidrógeno (100µM). La viabilidad de las células se determinó mediante la exclusión con azul tripano (0.2%). El tratamiento se realizó durante una hora a 4 °C, para evitar la reparación del ADN. 10µl de la suspensión celular se mezcló con 75µl de agarosa de bajo punto de fusión (LMA), la mezcla se colocó en un portaobjetos previamente recubierto con una capa de agarosa de punto de fusión normal. La suspensión celular fue cubierta con un cubreobjetos y mantenida a 4 °C durante seis minutos. Luego se retiró el cubreobjetos y las láminas fueron sumergidas en una solución de lisis (NaCl 2,5M, Na₂EDTA 100mM, TRIS 10mm, triton X-100 1%, y DMSO 10%) a 4 °C durante una hora, luego se llevaron las láminas a una solución de electroforesis alcalina para permitir desenrollamiento del ADN y expresión de sitios lábiles a álcalis (Na₂EDTA 1 mM, NaOH 300mm, pH 13) a 4 °C y por 30 minutos. Luego se realizó la electroforesis durante 30 minutos a 25 voltios y 300 mA. Al término de la electroforesis, las láminas fueron lavadas con amortiguador neutralizante (tris 0,4M, pH 7,5) por 15 minutos y deshidratadas con metanol absoluto. Las láminas fueron teñidas con 30µl de Bromuro de etidio 2µg/ml y examinadas en un microscopio de fluorescencia equipado con un filtro de excitación de 515-560 nm y un filtro barrera de 590 nm usando una magnificación de 250X. De cada individuo se analizaron 50 células por duplicado, con un programa computarizado de análisis de imágenes que permite recolectar datos como longitud de la cola, momento de Olive (relación entre la distancia desde el centro de gravedad de la cabeza (CGH) al centro de gravedad de la cola (CGT) y el porcentaje de DNA en la cola %DNAT. (21)

$$MO = \frac{CGT - CGH}{\%ADNT}$$

Prueba de viabilidad. Para investigar si los efectos en el ADN estuvieron acompañados por efectos citotóxicos, la viabilidad de los linfocitos se determinó por exclusión con azul tripano (0,2%) antes y después del tratamiento.

Análisis estadístico. Las variables cuantitativas se estudiaron mediante la prueba t de Student pareada, para comparar los dos momentos antes y final del estudio (a los 5 meses), también se aplicó el análisis de varianzas de medidas repetidas para el seguimiento mensual del peso y la presión arterial y el análisis de varianzas de bloques al azar para el estudio de genotoxicidad (Momento de Olive). En estos análisis se usó una probabilidad estadística de p<0.05. Se utilizó el programa STATISTICA 98.

RESULTADOS

Todos los pacientes expresaron mejoría en los síntomas de la gastritis y de otras alteraciones, principalmente del sistema digestivo como constipación, y algunos que padecían reflujo mejoraron, la epigastralgia se empeoró solo en un 10% de los pacientes en el primer mes de evaluación; y las cefaleas frecuentes que ya existían en dos pacientes antes de la intervención, se mejoró en uno de ellos al final del estudio. Todos los que expresaron falta de vitalidad al inicio del estudio (un 50%) mejoraron al final, y además sintieron menos fatiga. También se presentó mejoría en otros síntomas como el estreñimiento, en aquellos que lo padecían, la diarrea en algunos pacientes disminuyó hacia el final del estudio y un paciente se recuperó de reflujo gástrico. (Tabla 1) Ninguno de los síntomas empeoró hacia el final de la investigación. La ingesta promedio de agua de mar fue de 350 ml., con un mínimo de 60 ml. en un día y un máximo de 1.800 ml. en un día.

En el seguimiento mensual del peso y la presión arterial durante los primeros 90 días, no se observaron cambios significativos en los 20 pacientes evaluados (Tabla 2). No se incluyeron todos, dado que algunos pacientes no cumplieron con todas las citas mensuales y se excluyeron debido a que el análisis de varianzas de medidas repetidas exige el mismo número de muestras en todas las evaluaciones.

En el ionograma (tabla 3), no se observaron modificaciones significativas en las concentraciones de los principales electrolitos, pero si un aumento significativo de magnesio (1.65 ± 0.28 contra 1.91 ± 0.44 ; $p=0.0167$).

Con relación a las variables sanguíneas (tabla 4), no hubo cambios significativos en las cifras de BUN, bilirrubina total, creatinina, glicemia, transaminasa ALT y tiempo de protrombina; pero si se observaron aumentos estadísticamente significativos en las cifras de bilirrubina directa (0.079 ± 0.067 contra 0.122 ± 0.103 mg/dl, $p=0.0153$) y transaminasas AST (17.4 ± 6.9 contra 22.6 ± 7.4 U/l, $p=0.0026$). Aunque estos cambios fueron significativos, se mantuvieron dentro de los intervalos de normalidad.

Respecto al hemograma (Tabla 5) se observaron aumentos significativos en las cifras de eritrocitos (4.6 ± 0.4 contra 4.9 ± 0.4 M/ μ l, $p=0.000001$) y hematocrito (39.2 ± 4.0 contra $40.9\pm 3.9\%$, $p=0.0059$); y disminución significativa de hemoglobina corpuscular media (35.1 ± 0.7 contra 34.4 ± 0.5 g/dl, $p=0.00009$); Todas estas cifras dentro de los intervalos de normalidad.

No se presentaron diferencias en la viabilidad de los linfocitos entre el inicio y el final del estudio (cerca del 95%). En la prueba de genotoxicidad evaluada también en linfocitos, se observó un aumento pequeño pero significativo en el momento de Olive (0.78 contra 1.98 , $p=0.0005$).

DISCUSIÓN

A pesar del uso del agua de mar para consumo oral en humanos y animales, con fines nutricionales y terapéuticos y de algunas publicaciones recientes sobre el tema, son pocas las investigaciones en las que se evalúa la posible toxicidad. En un estudio anterior realizado por nuestro grupo (22) no hubo efecto citotóxico ni genotóxico sobre linfocitos humanos

incubados por una hora en agua de mar hipertónica. En otras investigaciones se han observado efectos favorable del agua de mar refinada en conejos, (10) debido a la disminución sérica de peróxido de lípidos; en la otra, (11) también en conejos, no se observaron cambios significativos respecto al grupo control, en la actividad de transaminasas séricas, al final de 28 días de consumo de agua de mar tratada y refinada. Por otra parte, en un estudio realizado en ratones, que tomaron agua de mar refinada (desalada) y diluida por 12 semanas, colectada de superficie y de profundidad, se descarto toxicidad evaluada por el cambio en las cifras de variables hematológicas y el comportamiento de los animales. (23)

En este estudio no se observaron efectos tóxicos por la ingesta de agua de mar natural, a pesar de los altos volúmenes ingeridos por parte de algunos pacientes. Sobre los aumentos significativos de bilirrubina directa, y transaminasa AST, que se mantuvieron dentro de los intervalos de normalidad; y en presencia de aumentos significativos de eritrocitos, hematocrito; pueden estar indicando un aumento del recambio celular; pero, no tenemos explicación clara de este efecto del agua de mar. Sin embargo, es importante anotar que en el estudio que realizamos *in vitro*, (22) observamos un aumento leve pero significativo del porcentaje de hemólisis de los eritrocitos incubados por tres horas en agua de mar natural hipertónica. No se presentaron efectos desfavorables en el peso corporal y la presión arterial. Respecto a la prueba de genotoxicidad tampoco indicó alteraciones patológicas. Por otra parte, aunque no se presentaron cambios favorables en el estudio anatomopatológico ni en la presencia de *Helicobacter Pylori*, si se notó mejoría de los síntomas de la gastritis en la totalidad de los pacientes y en algunos casos se mejoraron otros síntomas como constipación y reflujo gástrico. El pH básico característico del agua de mar, con sistema bicarbonato incluido y el elevado contenido de sales pueden estar actuando como antiácidos. Además, casi la mitad de los pacientes expresaron sensación de mayor vitalidad y menos fatiga física y mental, lo que posiblemente tenga relación con el aumento significativo en las cifras de magnesio sanguíneo, debido a que este elemento es indispensable en el metabolismo y los procesos de señalización celular. Las bajas concentraciones de magnesio son muy prevalentes, aún en los países desarrollados (24); a este elemento se le atribuyen algunos de los efectos terapéuticos del agua de mar en las investigaciones realizadas en Japón para el tratamientos de problemas de piel (eccema y dermatitis) y trastornos inmunológicos como el de la rinitis alérgica (7,8). Aunque los resultados de este estudio no indicaron toxicidad, es importante evaluar algunas variables sanguíneas en consumidores crónicos de agua de mar, que lleven más de un año con esta práctica.

RECONOCIMIENTO

Este trabajo contó con el apoyo de la Universidad de Antioquia, la Universidad Nacional-sede Medellín, el Hospital de La Ceja y las fundaciones Aquamaris de Badalona-España, Proboquilla de Cartagena de Indias y El Mana de La Ceja.

BIBLIOGRAFÍA

1. Diógenes L. Vidas de los más ilustres filósofos griegos. 1ª ed. Barcelona. Ediciones Orbis, S.A. 1985
2. Mahé A. El plasma de Quinton. El agua de mar nuestro medio interno. 1ª Ed Barcelona. Icaria editorial, SA. 1.999
3. Quinton R. L'eau de mer milieu organique. Constance du milieu marin original comme milieu vital des cellules, à travers la série animale. 39a ed. Paris : Editions Encre, 1995 :503
4. Jarricot J. Origines marines de la vie et pédiatrie. 1ª Ed, Largentière. 1938
5. Simon R, Quinton R. L'eau de mer. En injections isotoniques sous-cutanées dans le traitement de la tuberculose pulmonaire. 1ª Ed, Paris. Editions de la revue des idées. 1.906
6. Turekian KK. Los océanos. 1ª Ed, Barcelona, Ediciones Omega S.A. 1974
7. 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). Acta Médica. 2002; 45: 83-84
8. Kimata H, Tai H, Nakajima H. Reduction of allergic skin responses and serum allergen-specific IgE and IgE-inducing cytokines by drinking deep-sea water in patients with allergic rhinitis. Otorhinolaryngol Nova. 2001; 11: 302-303
9. Tai H, Nakagawa K, Watanabe Y, Yokoyama Y, Nakajima H, Ikegami Y, Nozaki Y, Kikuchi Y. Effect of high mineral water prepared from deep-sea water on human blood pressure and hemorheological parameter. Deep Ocean Water Res. 2000; 1:53
10. Yoshioka S, Hamada A, Cui T, Yokota J, Yamamoto S, Kusunose M, et al. Pharmacological activity of deep-sea water: examination of hyperlipemia prevention and medical treatment effect. Biol Pharm Bull. 2003; 26: 1552-1559
11. Miyamura M, Yoshioka S, Hamada A, Takuma D, Yokota J, Kusunose M, et al. Difference between deep seawater and surface seawater in the preventive effect of atherosclerosis. Biol Pharm Bull. 2004; 27: 1784-1787
12. Arslan Z, Ertas N, tyson JF, Uden PC, Denoyer ER. Determination of trace elements in marine plankton by inductively coupled plasma mass. Fresenius J anal Chem. 2000; 366: 273-282
13. Fenical W. Chemical studies of marine bacterias: developing a new resource. Chem Rev. 1993; 93:1673-1683
14. Fundación Aquamaris www.aquamaris.org Consultados en octubre de 2006
15. Hood DW. Los ciclos químicos del mar. En Vetter RC. Oceanografía. La última frontera. 1ª ed. Buenos Aires. Editorial El Ateneo. 1976: 30-40
16. Arvanitidou M, Katsouyannopoulos V, Tsakris A. Antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from coastal bathing waters. J Med Microbiol. 2001; 50:1001-1005
17. Perfiles epidemiológicos. Región costa Atlántica. Ministerio de salud. Santafé de Bogotá D.C., marzo de 1996
18. Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiología médica. 10ª Ed. Madrid: Mc. Graw-Hill. Interamericana; 2001. Pp. 401-420
19. Singh N P, McCoy M, Tice R, Schneider E. L. A simple technique for quantitation of low levels of ADN damage in individual cells. Experimental cell research. 1988; 175: 184-191
20. Duthie S J, Ross M, Collins A R. The influence of smoking and diet on the hypoxanthine phosphoribosyl transferase (hprt) mutant frequency in circulating T lymphocytes from a normal human population. Mutation Research 1995; 331:55-64

21. Konka K, Lankoff A, Banasik A, Lisowska H, Kuszewski T, Gózd S, Koza Z, Wojcik A. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay. *Mutation Research* 2003; 534:15-20
22. Soler W, Velásquez N del C, Miranda LF, Zuluaga DC. Ausencia de genotoxicidad de agua de mar de Coveñas: estudio *in vitro* en eritrocitos y leucocitos humanos. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 2005; 23 (2):25-30
23. Tsuchiya Y, Watanabe A, Fujisawa N, Kaneko T, Ishizu T, Fujimoto T, et al. Effects of desalated deep seawater on hematologic and blood chemical values in mice. *Tohoku J. Expe. Med.* 2004; 203:175-182
24. Fleet JC, Cashman KD. Magnesio. En: Bowman AB, Russell RM. *Conocimientos actuales sobre nutrición*. Washington, DC: OPS- ILSI, publicación científica y técnica N° 592; 2003:318-329

Tabla 1. Efecto de la ingesta de agua de mar natural por cinco meses, sobre variables clínicas en 20 pacientes

	Mejóro (%)		Empeoró (%)	
Variable	Mes1	Final	Mes 1	Final
Epigastralgia	75	100	10	
Vitalidad	30	50		
Fatiga	30	50		
Estrés	35	35	5	
Artralgia	5	5		
Estreñimiento	25	25		
	Mayor (%)		Menor (%)	
Variable	Mes1	Final	Mes 1	Final
Diarrea	15	5	10	
Diurésis	15	20	5	
Apetito	15	20	15	

TABLA 2. Efecto de la ingesta del agua de mar natural por tres meses, sobre la presión y medidas antropométricas de pacientes con gastritis

Variable	Inicio	Días de consumo				n	Tasa Pillai-Bartlett	p
		30	60	90				
Peso (Kg)	56.9(8.6)*	56.8(8.9)	57.0(8.9)	56.9(8.8)	20	0.025	0.93	
IMC	23.5(2.7)	23.5(2.9)	23.6(2.9)	23.4(3.0)	20	0.072	0.72	
P.Sistólica (mmHg)	112.7(11.8)	113.4(14.5)	114.5(13.0)	109.9(12.3)	19	0.224	0.24	
P.Diastólica(mmHg)	74.1(7.9)	73.2(8.0)	73.2(5.6)	70.7(7.9)	19	0.192	0.31	

*(Desviación estándar)

Tabla 3. Efecto de la ingesta de agua de mar natural por cinco meses sobre el ionograma de pacientes con gastritis

Ion	Promedio (DE)		N=32		
	inicio	final	t	p	Valor de referencia
Mg(mg/dl)	1.65(0.28)	1.91(0.44)	-2.53	0.0167	1.70-2.40
Cl(mmol/l)	104.4(3.5)	104.9(5.3)	-0.42	0.6801	98-106
K(mmol/l)	4.35(0.40)	4.38(0.43)	-0.34	0.7391	3.5-5
Na(mml/l)	143.3(3.9)	145.7(8.2)	-1.45	0.1563	136-145
*Ca(mg/dl)	9.2(0.7)	9.4(0.7)	-1.67	0.1079	9-10.5

* N=24

Tabla 4. Efecto de la ingesta de agua de mar natural por cinco meses sobre variables sanguíneas de pacientes con gastritis

Variable	Promedio (DE)		N=32		
	Inicio	Final	t	p	Valor de referencia
BUN(mg/dl)	19.8(8.3)	19.6(7.1)	0.16	0.8988	15 -39
Bilirrubina Directa(mg/dl)	0.079(0.067)	0.122(0.103)	-2.57	0.0153*	0.00 -0.25
Bilirrubina Total (mg/dl)	0.659(0.294)	0.700(0.365)	-0.68	0.5012	0.00 -1.1
Creatinina (mg/dl)	0.91(0.13)	0.95(0.11)	-1.69	0.1016	0.9 -1.3
Glicemia(mg/dl)	81.3(10.2)	81.9(8.1)	-0.28	0.7831	70 -105
AST(U/L)	17.4(6.9)	22.6(7.4)	-3.27	0.0026*	0 - 46
ALT (U/L)	16.5(5.2)	19.0(6.2)	-1.93	0.0632	0- 46
Tiempo protrombina	14.3(1.6)	14.7(1.5)	-1.76	0.0878	

*p <0.05: estadísticamente significativa

Tabla 5. Efecto de la ingesta de agua de mar natural por cinco meses sobre el hemograma de pacientes con gastritis

Variable	Promedio (DE)		N=24		
	Inicio	Final	t	p	Valor de referencia
Glóbulos blancos(K/ul)	6.5(2.0)	6.4(1.4)	0.44	0.6674	4.5 -11.0
Linfocitos (K/ul)	1.9(0.5)	1.9(0.6)	-0.35	0.7311	1.5 - 4.0
Monocitos (K/ul)	0.4(0.2)	0.4(0.1)	0.57	0.5748	0.1 - 0.8
Granulocitos (K/ul)	4.2(2.0)	4.1(1.5)	0.59	0.5628	2.3 - 6.5
Eritrocitos (M/ul)	4.6(0.4)	4.9(0.4)	-6.63	0.000001*	4.5- 4.9
Hemoglobina (g/dl)**	13.8(1.5)	14.0(1.5)	-1.23	0.2275	13.0 - 15.0
Hematocrito (%) **	39.2(4.0)	40.9(3.9)	-2.96	0.0059*	38.0 - 45.0
Volumen corpuscular medio (fl)	87.0(4.0)	87.1(3.8)	-0.40	0.6934	82.0 - 96.0
Hb corpuscular (pg)	30.5(1.7)	30.0(1.5)	4.65	0.0001*	28.0 - 32.0
Conc. de Hb corpuscular media (g/dl)	35.1(0.7)	34.4(0.5)	4.74	0.00009*	33.0 - 36.0
Rango de distribución de eritrocitos (%)	14.2(06)	14.1(0.7)	0.21	0.8396	11.5-14.5
Plaquetas (K/ul)	270.0(55.3)	276.4(55.4)	-0.74	0.4658	150.0 - 400.0
Volumen corpuscular de plaquetas (fl)	8.1(1.1)	8.1(0.9)	0.06	0.9494	7.4 -10.4

* p<0.05: indicación estadísticamente significativa. **N=32

Figura 1. Momento de Olive para medir efecto genotóxico de la ingesta de agua de mar por cinco meses. Prueba de Wilcoxon.

