

Trabajo Original

Toxicología Experimental

## **Evaluación de los parámetros bioanalíticos y pH salival en ratones inducidos experimentalmente a adicción a la cocaína y bajo tratamiento con agua de mar isotónica como terapia de "habilitación".**

**María L -Di Bernardo N<sup>1</sup>; Aribert -Castro A<sup>2</sup>; Carlos E- Rondón<sup>3</sup>; Juan C- Yopez G<sup>4</sup>; Yasmin C -Morales<sup>5</sup>; Douglas A -González Q<sup>6</sup>.**

1. Dra. Química Analítica. Departamento de Toxicología y Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.
2. MSc. Química Aplicada. Departamento de Hematología Clínica. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.
3. Dr. Química Analítica. Laboratorio de Espectroscopia Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.
4. Dr. Patología existencial e intervención en crisis. Cátedra de Hematología, Departamento de Bioanálisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.
5. MSc. Ciencias Médicas Fundamentales. Centro de Microscopia Electrónica. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela. Actual convenio ONA-OVD.
6. Coronel (GN). Ex director del Observatorio Venezolano de Drogas- Actual Director de Inteligencia Militar para el orden interno de la GNBV. Caracas-Venezuela

Correspondencia de autor (es): Dra. María Luisa-Di Bernardo Navas/ MSc. Aribert Castro.

Grupo de Investigaciones en Toxicología Analítica y Estudios Farmacológicos (GITAEF).

Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Toxicología y Farmacología.

Universidad de Los Andes-Mérida-Venezuela. Correo: [girard@ula.ve](mailto:girard@ula.ve),

[marydi32@gmail.com](mailto:marydi32@gmail.com)

## Resumen

Actualmente el tratamiento para las adicciones consiste en una serie de intervenciones clínicas estructuradas de tal manera que resultan útiles para promover y apoyar la recuperación y "habilitación" de una persona afectada por la adicción hacia una mejor calidad de vida. Sin embargo, todas estas intervenciones clínicas incluyen en sus esquemas terapéuticos el uso de medicamentos psicotrópicos; evidentemente el empleo de estos ha demostrado sus efectos positivos, pero traen aparejados efectos secundarios. De allí, la necesidad de buscar terapias complementarias que coadyuven con las existentes y contribuyan aminorar estos efectos secundarios. El agua de mar isotónica por su identidad fisiológica al plasma sanguíneo y demás líquidos celulares representaría una terapia complementaria sin consecuencias, en la "habilitación" de consumidores de cocaína. La misma por poseer un pH alcalino podría restaurar los daños a la integridad celular que ocasiona la droga y restablecer las condiciones de homeostasis necesarias para que el organismo reaccione adecuadamente y pueda superar mejor las patologías que le afecten.

El estudio involucró 56 ratones cepa NMRI de ambos géneros durante 12 semanas, los cuales fueron divididos en cuatro grupos experimentales según tratamiento y sometidos antes, durante y fin del experimento a análisis hematológicos, bioquímicos, así como evaluaciones conductuales, pH salival y finalizado el ensayo se realizó autopsia con la finalidad de observar daños orgánicos producto de la droga. Los resultados obtenidos para cada uno de los grupos al realizar estadística descriptiva simple, análisis de varianza por un factor (ANOVA) y test de Duncan mostraron con un 95% de confianza que el agua de mar isotónica fue capaz de minimizar y/o restaurar los impactos de la droga en el sistema inmunológico, renal y hepático, observándose que entre los grupos y las semanas 0, 6 y 12, existen diferencias altamente significativas con un nivel de  $p=0.00$ . El agua de mar mostro tener capacidad de restaurar el pH salival a la alcalinidad en los ratones con uso de la droga, en el grupo sin agua de mar por el contrario mostro niveles de 4 UpH, lo que predispuso a estos animales a infecciones dérmicas severas, alta fragilidad capilar, estados de agresividad y resistencia a su manipulación. La hormona

cortisol en el grupo agua de mar-droga mostro tendencia a la normalidad, observando diferencias altamente significativas entre los grupos con un  $p= 0,001$ . Adicionalmente en hallazgos anatomopatológicos se observó en el grupo sin agua de mar-droga una marcada esplenomegalia, asimetría renal y tumores en los órganos reproductores. En conclusión: el uso de agua de mar representaría una terapia útil, de bajo costo y sin efectos secundarios para promover y apoyar la recuperación y "habilitación" de una persona afectada por la adicción hacia una mejor calidad de vida. Si asumimos que la cocaína causa distorsiones del pH con tendencia a la acidez y como consecuencia los daños multiorgánico. Al corregirse el pH se interrumpe la retroalimentación de los microorganismos patógenos, mientras que los microorganismos necesarios para el metabolismo reciben el ambiente propicio para desarrollarse.

Usar el agua de mar combinada con terapias tales como el biomagnetismo médico, serían de gran utilidad, ambas se complementarían para lograr restablecer el pH y así, el equilibrio orgánico. Este estudio se encuentra actualmente en curso por nuestro grupo de investigación.

**Palabras clave:** cocaína, bioquímica clínica, bioelementos, pH celular, agua de mar, biomagnetismo médico.

---

## Summary

### **Evaluation of bioanalytical parameters and salivary pH in mice experimentally induced cocaine addiction and treated with isotonic sea water therapy**

#### **"habilitation".**

Currently the treatment for addictions consists of a series of structured such clinical interventions that are useful to promote and support recovery and "habilitation" of a person affected by addiction to a better quality of life person.

However, all these clinical interventions in their treatment regimens include the use of psychotropic drugs; obviously the uses of these have shown its positive effects, but have side effects. Hence the need to seek complementary therapies that help with existing and help lessen these side effects. The isotonic seawater for their physiological identity blood plasma and other cellular liquids represent a complementary therapy without consequences, "habilitation" of cocaine. The same for having an alkaline pH could restore damaged cell integrity caused by the drug and restore homeostasis conditions necessary for the body to react properly and can better overcome the pathologies that affect them.

The study involved 56 mice strain NMRI both genders for 12 weeks, which were divided into four experimental groups according treatment and subject before, during and end of the experiment hematological, biochemical and behavioral assessments, salivary pH and completion of the test autopsy was done with the purpose of observing organ damage drug product.

The results obtained for each of the groups to perform a simple descriptive statistics, analysis of variance (ANOVA) and Duncan test showed a 95% confidence that the isotonic seawater was able to minimize and / or restore impact of the drug on the immune, renal and hepatic system, noting that between groups and weeks 0, 6 and 12, there are highly significant differences with a level of  $p = 0.00$ . Seawater showed be able to restore the salivary pH to alkalinity in mice with drug use in the group without seawater instead showed levels of 4 UpH, which predisposed the animals to severe skin infections, high capillary fragility, states of aggressiveness and resistance to handling.

Cortisol in water sea-drug group showed a tendency to normal, noting highly significant differences between groups with  $p = 0.001$ . In addition to pathologic findings was observed in the group without drug seawater and marked splenomegaly, renal asymmetry and tumors in the reproductive organs. In conclusion: the use of seawater therapy would represent a useful, inexpensive and without side effects to promote and support recovery and "habilitation" of a person affected by addiction to a better quality of life person. If we assume that cocaine causes distortions pH prone to acidity and as a result of multiple organ damage. When the pH corrected feedback is interrupted pathogenic microorganisms, while the microorganisms necessary for metabolism receive conducive to develop environment.

They use sea water combined with therapies such as medical biomagnetismo, would be very useful, both would be supplemented to achieve restore the pH and thus the organic balance. This study is currently underway by our research group.

**Keywords:** cocaine, clinical biochemistry, bio-elements, cellular pH, sea water, medical biomagnetismo.

## Introducción

Las drogas de abuso y por consiguiente la adicción a las mismas constituyen un fenómeno de enorme impacto sanitario, económico, legal y político, por tratarse de una de las epidemias sociales de mayor y más rápida extensión en los últimos tiempos, que se ha agravado con el pasar de los años y representa una gran amenaza para la salud y el bienestar de los seres humanos (1).

Muchos investigadores, filósofos, sociólogos y psicólogos enfocan el fenómeno de la drogadicción como una problemática sociocultural, su tratamiento y "habilitación" comparten entre sí algunas características básicas. Actualmente el tratamiento para las adicciones consiste en una serie de intervenciones clínicas, estructuradas de tal manera que resultan útiles para promover y apoyar la recuperación de una persona afectada. Sin embargo, todas estas intervenciones clínicas incluyen en sus esquemas terapéuticos el uso de medicamentos psicotrópicos que regulan aspectos variados del estado mental como la ansiedad, la afectividad o la motivación generando daños o efectos colaterales. De allí la necesidad de buscar terapias complementarias que coadyuven con las existentes y contribuyan a aminorar dichas consecuencias. El agua de mar representaría una terapia complementaria que puede ser utilizada como estrategia de intervención clínica en los consumidores de cocaína u otras drogas que por efectos secundarios de las mismas, cursen daños al sistema inmunológico, hepático y renal, deficiencias nutricionales y cambios en el pH.

Estudios recientes en ratones, han demostrado que el agua de mar resulta una terapia útil en anemia ferropénica, medicamentosa y en estados desnutricionales por deficiencias de minerales. Los investigadores adicionalmente, reportan que el agua de mar utilizada resulto microbiológicamente libre de agentes patógenos y toxicológicamente libre de sustancias tóxicas, indican los investigadores que el agua de mar posee un pH alcalino lo que posiblemente inhabilite presencia de patógenos. Recomiendan hacer su recolección en horas de la mañana, alejados a unos 20 metros de la orilla y microfiltrarla (2,3).

Ha sido demostrado en modelos animales que consumir cocaína imposibilita la correcta absorción de bioelementos tales como calcio, magnesio, cobre y zinc con la consecuente desnutrición, anemias y depresión del sistema inmunológico por ocasionar desequilibrios en la relación Cu/Zn, predisponiendo al organismo a enfermedades virales e infecto-contagiosas (4,5).

Gracia y Bustos (2005), informan que el agua de mar posee propiedades terapéuticas demostradas científicamente en patologías tales como insuficiencias respiratorias, depresión del sistema inmunológico, estados de depresión, ansiedad, desnutrición, enfermedades óseas y dérmicas, entre otras (6).

El uso nutricional y terapéutico del agua de mar en humanos y animales por vía subcutánea, intramuscular e intravenosa se inició en Francia al final del siglo XIX, a partir de las investigaciones del fisiólogo René Quinton, quien la utilizó en cultivo de linfocitos, como sustituto de sangre en perros y luego por vía subcutánea en humanos para tratar la desnutrición y una amplia variedad de problemas clínicos (7).

Fenical (1993) y Mahe (1999) indican que el uso con fines terapéuticos del agua de mar se ha fundamentado en el contenido de toda clase de minerales y oligoelementos esenciales para la vida celular presentes en ella y en proporciones comparables a la del plasma sanguíneo. También reportan que la actividad antibiótica, antitumoral, antiinflamatoria, antiviral, entre otros, que tiene el agua de mar se debe a la capacidad de las bacterias marinas de sintetizar compuestos orgánicos (8,9).

El presente trabajo se planteó como objetivo evaluar el agua de mar isotónica como terapia complementaria en ratones inducidos experimentalmente al consumo de cocaína y que desarrollaron detrimento en los valores de hemoglobina, hematocrito, leucocitos, urea, creatinina, transaminasas, cortisol. Así, como valorar la capacidad de restaurar el pH del organismo, el cual el consumo de cocaína lo convierte en ácido con predisposición a producirse infecciones en sus habituados. El pH es un parámetro que nos permite inferir a nivel orgánico la homeostasis (equilibrio entre el medio interno y externo); del mismo pueden deducirse algunas patologías tales como enfermedades tumorales (tipo cáncer), diabetes, infecciones, entre otros. En un medio alcalino se

imposibilita la aparición de enfermedades, el agotamiento físico, procesos inflamatorios, infecciosos, ulcerosos y degenerativos los cuales son consecuencia de la acidosis metabólica. (10-12). Existe otra herramienta útil que bien podría complementarse con el agua de mar para restaurar el pH revertir los daños orgánicos que ocasiona la droga, como es el Biomagnetismo médico, el cual consiste en la aplicación de imanes de una determinada polaridad (carga positiva o negativa) y de igual fuerza (Gauss) en puntos específicos del cuerpo humano formando pares (par biomagnético) con el fin de restablecer el pH (proporción de hidrogeniones) y, a través de ello, privar a los agentes biológicos patógenos de su medio ambiente. El "par biomagnético" establece resonancia magnética entre sí, esto es una especie de comunicación a distancia a través de electrolitos entre una zona de de pH. Al corregirse el pH se interrumpe la retroalimentación energética de los agentes patógenos (13-15).

## **Metodología y Parte Experimental**

### **Procedimiento analítico**

#### **Parámetros hematológicos**

La Hemoglobina (Hb) se determinó a través del método de la cianometahemoglobina, siendo confiable, solo presenta un error del 2%. El hematocrito (Hto) se determinó por el método de microhematocrito, la lectura se realizó a través de tablas logarítmicas. Es un método sencillo, rápido y sus resultados son satisfactorios.

El recuento de glóbulos blancos (GB) se determinó el número de leucocitos por  $\text{mm}^3$  de sangre, con la ayuda de la cámara de Neubauer. El Recuento diferencial de leucocitos o glóbulos blancos es una parte rutinaria de la hematología completa, que puede ser útil en la valoración de una infección o inflamación, en la valoración de los efectos de intoxicaciones causadas por sustancias químicas o drogas, en el monitoreo de trastornos sanguíneos como la leucemia, y en los efectos secundarios de tratamientos como la quimioterapia. Para realizar el recuento diferencial se necesita de un frotis (16,17).

---

## **Parámetros bioquímicos**

Las determinaciones de la química sanguínea tales como urea, creatinina y transaminasas (TGO y TGP) se realizaron en el espectrofotómetro de química semi-automatizado marca CHEM 7 ERBA MANNHEIM. Las condiciones experimentales para la determinación de los parámetros de interés se describen en la tabla 1.

La determinación del cortisol se realizó a través del método ELISA, técnica de inmonuensayo, se utilizó el kit comercial de diagnóstica internacional, y un lector de ELISA marca Mindray, modelo MR-96A. El pH salival se empleo test indicador, marca Trademark específico para el fluido saliva, con rango de medición desde pH 1 a 14. Ver Tabla N°1.

## **Población de estudio**

Se utilizaron 56 ratones durante 12 semanas, ambos géneros (28 hembras y 28 machos) con pesos de  $26 \pm 2$  gramos(g), cepa Naval Medical Research Institute (NMRI), en edad adulto-joven, criados y mantenidos en el Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA). Se dividieron en cuatro grupos con sus respectivos diseños experimentales como se muestran en la Tabla 2.

## **Muestreo y muestras**

### **Agua de mar**

Se uso agua de mar recolectada en diferentes costas de Venezuela, las mismas contaron con una ficha de recolección que permitía tomar datos iniciales, tales como: hora, lugar, conductividad, pH, temperatura y características organolépticas. Las muestras fueron microfiltradas y sometidas a análisis microbiológicos y toxicológicos e isotonizadas con agua potable esterilizada en relación 1:4 volumen/volumen.

---

## **Muestras de sangre**

Las muestras de sangre se tomaron con tubos capilares vía retro orbital. La muestra obtenida por animal fue de aproximadamente entre 2 a 3 mL, las cuales se guardaron en ependorft con anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) o no dependiendo del tipo de análisis a realizar.

## **Análisis estadístico**

El análisis de los datos obtenidos se realizó en el IBM SPSS Statistics 22.0, los datos fueron sometidos a estadística descriptiva, análisis de varianza (ANOVA) de un factor, para determinar diferencias significativas en las variables bajo estudio y luego para los datos significativos comparaciones múltiples post-hoc (Duncan), para indagar si existen diferencias inter grupo. El nivel de significación estadístico se determinó a un  $p=0.05$ .

## **Resultados y Discusión**

El estudio involucró 56 ratones cepa NMRI de ambos géneros, los cuales fueron divididos en cuatro grupos (CT, CE, EA y EB), como se mostró en la Tabla 2, y a su vez, cada uno de ellos sometidos a diferentes evaluaciones experimentales, durante distintas etapas de la investigación: semana 0 (basal), semana 6 (intermedio) y semana 12 (final). Los ratones durante las tres etapas de la investigación fueron sometidos a determinación de parámetros hematológicos (hemoglobina, hematocrito y leucocitos), bioquímicos (transaminasas, creatinina, urea y cortisol), así como el pH salival, para valorar la implicación del agua de mar como terapia complementaria en ratones inducidos experimentalmente al consumo de cocaína.

Los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros evaluados en los grupos bajo estudio al realizar estadística descriptiva simple, análisis de varianza por un factor (ANOVA) y test de Duncan mostraron los siguientes resultados:

## Parámetros hematológicos

El grupo EA durante la semana 6 comenzó a mostrar un compromiso moderado, evidenciado descensos de los niveles de Hemoglobina (Hb) y Hematocrito (Hto). Este comportamiento se agudizó en la semana 12, donde se obtuvieron valores mínimos de  $9.00 \pm 1.62$  g/dL y  $25 \pm 6.65$  % de Hb y Hto respectivamente, como se muestra en las figuras 1,2. El Anova realizado **entre e inter** grupo mostro que no existían diferencias significativas ( $p=0,09$ ), entre el grupo CE, CT y el grupo EB, lo que nos indica que el agua de mar fue capaz de minimizar el impacto que hace la cocaína a nivel de este parámetro. Al realizar el test de Duncan se corrobora que el único grupo diferente era el EA. Estos resultados se muestran en las tablas 3 y 4.

Estos resultados están en concordancia a los reportados por Yasuo Tsuchiya y cols en el año 2004, estos investigadores utilizaron 110 ratones hembras cepas BALB/c de seis semanas de nacidas, que presentaron niveles bajos de hemoglobina y las sometieron a terapias con agua de mar la cual observo un efecto positivo en el sistema hematológico, logrando restablecer el parámetro (18).

Con respecto al conteo de leucocitos, al realizar análisis de varianza (tabla 5), se evidencia diferencias significativas en todos los grupos bajo estudio durante la investigación ( $p=0.00$ ). En comparación múltiple de medias, hacia la semana 6, los grupos CT, CE y EA muestran resultados iguales de leucocitos  $p= 0.18$ , y en contraste el grupo EB presenta valores que ascienden a medida que avanza el experimento, la semana 12, mostró promedios de  $11117.14 \pm 1602.55$  GBx $mm^3$  (tabla 6 y figura 3). Es conocido que los glóbulos blancos son potentes indicadores de estados patológicos del organismo, y a su vez, un descenso acelerado de los mismos representa una amplia vulnerabilidad para su posterior establecimiento. Un organismo apto para responder ante la instauración de cualquier enfermedad, será aquel donde el sistema de defensa sea capaz de revertir los daños y ese sistema inmunológico es mediado por los glóbulos blancos. Dichos resultados coinciden con experiencias reportadas por otros investigadores tales como: Quinton (7) entre sus experiencias, realizó un estudio in vitro, sobre los glóbulos blancos de peces, batracios, reptiles, mamíferos y aves; donde los

leucocitos consiguieron sobrevivir, en medio marino, 3 a 4 veces más tiempo que en suero fisiológico.

Por su parte Goeb (19) estudio la supervivencia de glóbulos blancos en varios tipos de soluciones salinas, demostrando que el tiempo de supervivencia de los glóbulos blancos en un plasma marino correctamente preparado es superior al observado en cualquier otro preparado mineral y el único medio en que los glóbulos blancos se han multiplicado.

### **Parámetros Bioquímicos: Urea, creatinina, transaminasas (TGO y TGP) y cortisol**

Los indicadores bioquímicos de daños renales y hepáticos, su tendencia en el grupo EA fue aumentar a medida que avanzaba el ensayo observándose valores de urea, creatinina, transaminasa (TGO y TGP) de  $63.29 \pm 12.19$  mg/dL,  $0.98 \pm 0.08$  mg/dL,  $154.36 \pm 122.49$  U/L y  $83.07 \pm 34.47$  U/L respectivamente, en la semana final, orientando hacia un posible daño renal y hepático, el que posteriormente fue corroborado en la autopsia, donde se observó una esplenomegalia marcada e hipertrofia renal y hepática, como se muestra en la figura 4.

En cuanto a los resultados observados en el grupo EB, al realizar comparación múltiple de medias, se evidencia que la cocaína afectó el sistema hepático tanto del grupo EA como del grupo EB, y la severidad del aumento fue aún mayor para la enzima TGO. En la semana 0, no había diferencias significativas entre ambos grupos con un  $p=0.88$ .

En la semana 12 de haber administrado agua de mar como tratamiento coadyuvante, se observa que la TGO es mayor en el grupo EA con un valor de  $154.36 \pm 122.49$  U/L que en el grupo EB  $101.71 \pm 37.09$  U/L, que aunque no se acerca a los valores normales de los grupos controles CT y CE con  $43.00 \pm 3.46$  y  $42.64 \pm 4.16$  U/L respectivamente, es posible asumir que al final de la experiencia en el grupo EB el daño de su sistema hepático fue moderado y se observa gráficamente en la figura 5 y 6 correspondientes a la semana basal y final.

Es importante resaltar que la enzima TGO se encuentra tanto en hígado, como en corazón, músculos, riñones y cerebro, por lo tanto presumimos, que la diferencia de concentraciones entre TGO y TGP, es debido a que el aumento de esta enzima es producto no solo de daño de origen hepático si no a nivel posiblemente de sistema renal como ya lo evidenciamos en los resultados de urea y creatinina.

### **Cortisol**

Conocemos que es una hormona esteroidea, o glucocorticoide, producida por la glándula suprarrenal. Se libera como respuesta al estrés y a un nivel bajo de glucocorticoides en la sangre. Sus funciones principales son incrementar el nivel de azúcar en la sangre a través de la gluconeogénesis, suprimir el sistema inmunológico y ayudar al metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos. Además, disminuye la formación ósea (19,20).

En el estrés, es observable el aumento en la sangre de cortisol y fisiológicamente aunque persista la situación estresante, sus niveles se van normalizando de forma progresiva. El constante aumento de la hormona se convierte en patológico, pues no se produce la normalización progresiva de la misma (21,22).

La hormona cortisol la usamos en este trabajo como un posible indicador de estrés y se altera en estados de ansiedad o depresión. Al realizar ANOVA se observó que existen diferencias significativas con un  $p=0.00$  tanto en la semana 0 como la semana 12 (tabla 8).

Al realizar test de Duncan, en la semana 0, los grupos CT y CE, no muestran diferencias significativas, al igual que los grupos EA y EB (tabla 9), es decir, asumimos que la administración de cocaína causó estrés, ansiedad y depresión. En la semana 12, el grupo al que se le proporciona agua de mar (CE), logra disminuir y diferenciarse del grupo CT.

El grupo EB aun cuando disminuye los valores de la hormona, no logra ser estadísticamente significativo del grupo EA con un  $p=0.11$ . Podemos asumir que tal vez sean necesarias más de 12 semanas para disminuir los valores de cortisol en la población adicta al consumo de cocaína.

El resultado obtenido con el grupo CE, permite asumir que el agua de mar posee algún efecto anti-ansiedad, similar a los reportes de Gracia y Bustos, donde le atribuyen efectos benéficos sobre los estados depresivos y de ansiedad.

Sin embargo, estudios más contundentes a nivel de neurotransmisores harían falta para corroborar tal presunción.

Los ratones mostraron estados de agresividad y la mayoría de este grupo invirtió el esquema en sus hábitos de horas-sueño; se reporta que la hormona cortisol cuando se altera debido a un agente externo, en nuestro caso la cocaína (un estimulante del SNC), es capaz de observar este comportamiento.

Es posible presumir, que los valores obtenidos de esta hormona son coherentes con la inmunosupresión observada en el grupo EA, respaldando dicha presunción con lo informado por otros investigadores (22,23), quienes concluyeron, que un aumento grave de esta hormona en la sangre produciría una total desaparición de leucocitos y probablemente la desactivación de los linfocitos T, provocando una disminución en la inmunidad celular. Sin embargo, los niveles de linfocitos en este estudio no presentaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos ensayados.

### **pH salival**

Es un indicador importante, **un medio ácido tiene menos oxígeno que en un medio alcalino**; todos los procesos metabólicos del cuerpo producen enormes cantidades de ácido, minuto a minuto, a pesar de que para poder funcionar apropiadamente, tanto las células y los tejidos, necesitan un entorno alcalino; y el cuerpo hará todo lo que esté en sus manos para mantener su diseño alcalino y mantener el equilibrio del pH. Autores como Krutchkoff (24) y Myers (25) señalan que la saliva actúa de manera determinante potenciando el pH de la cocaína, transformándola en un ácido capaz de producir lesiones en la encía y superficies dentarias, atribuyendo que es el pH ácido el causante de destrucción del tejido con isquemia, inflamación, micronecrosis, infección y macronecrosis hasta llegar a la perforación del tabique nasal.

Las tablas 9 y 10, muestran los resultados obtenidos al realizar la estadística descriptiva global simple y comparación de medias para el parámetro pH, observándose que entre los grupos y las semanas 0, 6 y 12, existen diferencias altamente significativas con un nivel de  $p=0.00$ , por lo tanto es posible asumir que el parámetro pH es distinto en los grupos estudiados, y que el factor agua de mar causó un efecto sobre la variable dependiente. Para reconocer en que grupos se manifiesta dicha diferencia, se aplicó Duncan (comparaciones múltiples post-hoc), obteniendo los siguientes resultados que se muestran en la tabla 11.

Como se puede observar en la tabla 12 y figura 7, en la semana 0 de experimentación, los grupos ensayados no mostraron diferencias significativas. Sin embargo, el grupo 4 (EB) mostró tendencia a la neutralidad.

En la tabla 13 se registran los resultados de comparación múltiple de medias para la semana 6. Los grupos bajo terapia con agua de mar (CE y EB), mostraron comportamiento diferente. Para los grupos EA=EB=CT no se evidenció diferencias significativas con un  $p=0.28$ . Pero el grupo CE que solo recibe agua de mar, muestra una tendencia a la alcalinidad con un pH de  $8.00\pm 0.00$ . En la última semana de experimentación (semana 12), los valores de los grupos EB=CT=CE no evidenciaron diferencias significativas ( $p=0.09$ ) al test de Duncan (ver tabla 14), es decir que es posible asumir que el agua de mar fue capaz llevar a niveles alcalinos al grupo EB, que en las etapas basal e intermedia manifestaron pH con tendencia a la acidez, posiblemente por la administración de la droga. Caso contrario ocurrió con el grupo EA, en el cual el pH disminuyó significativamente, dicho efecto lo observamos en la figura 8. Los resultados permiten asumir que el agua de mar posee un efecto favorecedor en el restablecimiento del medio interno de nuestro organismo.

Los valores obtenidos en el grupo EA en la semana 12 fue de  $6,93\pm 0,27$ , este resultado concuerda con lo reportado por otros investigadores; quienes han demostrado que el agotamiento físico, daño renal, hepático, procesos inflamatorios, infecciosos, ulcerosos y degenerativos son consecuencia de la acidosis metabólica, incluso el pH ácido podría ser

responsable de los estados de ánimo que cursan abatimiento, frustración, depresión, ansiedad, entre otros. (10, 25).

## **Conclusiones**

Los resultados obtenidos nos permiten concluir con un 95% de confianza lo siguiente:

- 1.** El agua de mar isotónica manifestó ser útil como terapia complementaria a consumidores de cocaína que cursen daños en su sistema inmunológico, renal y hepático.
- 2.** El agua de mar isotónica demostró tener un efecto positivo en la restauración del pH, lo que nos permite asumir que el uso de la misma podría ser eficaz en los consumidores de cocaína para normalizar la homeostasis y contrarrestar el daño multiorgánico que produce el consumo de la misma a las células.
- 3.** Los resultados obtenidos con la determinación de la hormona cortisol nos hacen presumir que el agua de mar isotónica tiene un impacto benéfico sobre el sistema nervioso central, disminuyendo los estados de ansiedad y estrés. Sin embargo, estudios más contundentes harán falta para aseverar tal presunción.
- 4.** El uso de agua de mar representaría una terapia útil, de bajo costo y sin efectos secundarios para promover y apoyar la recuperación y "habilitación" de una persona afectada por la adicción hacia una mejor calidad de vida.

## **Recomendaciones**

Es importante destacar que aun resultando el agua de mar una terapia útil, de bajo costo y fácil acceso en la adicción a la cocaína, su aplicación como terapia coadyuvante debe hacerse bajo supervisión y previa evaluación médica con los respectivos soportes bioanalíticos. Este trabajo constituye un aporte, por lo que 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.

---

## **Consideraciones éticas-legales.**

### **Trabajos con animales experimentales**

La presente investigación forma la parte I, de un trabajo de Tesis de Maestría y 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 de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, registrado bajo el número CEBOULA /040, de fecha 03 de abril del 2013.

### **Ley orgánica de drogas- Venezuela.**

El suministro y uso de drogas controladas es ilegal en humanos y animales con penas de prisión de dos a cuatro años. Sin embargo, la Ley Orgánica de Drogas en su **artículo 165** hace una exclusión a esta disposición que textualmente dice: *Quedan excluidos de esta disposición los y las especialistas, científicos y científicas debidamente facultados o facultadas por la autoridad competente, que las emplearen con fines de investigación.*

### **Situación del uso del agua de mar en Venezuela**

El uso terapéutico del agua de mar en nuestro país a diferencia de Europa y otros países de América no está contemplado por los sistemas de salud ni por la legislación de medicina natural, alternativa o complementaria. Sin embargo, algunos médicos y centros homeopáticos la usan y recomiendan. Con este trabajo y otros anteriores (2,3) pretendemos señalar los efectos del agua de mar y que sirvan de base o sustento científico para solicitar su uso como terapia complementaria para patologías clínicas que cursen daño a la integridad celular producto de cambios drásticos en el pH intracelular y extracelular, en adicciones tóxicas y como suplemento nutricional.

**Tabla 1. Condiciones experimentales para determinación de parámetros bioquímicos.**

Parámetro	Urea	Creatinina	TGO	TGP
Longitud de onda (nm)	340	510	340	340
Reactivo	Cromatest	Cromatest	Cromatest	Cromatest
Método	Enzimático UV	Cinético	Enzimático UV	Enzimático UV
Volumen muestra(μL)	10	50	50	50

**Tabla 2. Condiciones de los grupos experimentales**

Grupos	Condiciones experimentales	Observaciones
Control testigo (CT)	Alimento convencional y agua potable Ad-Libitum	Bajo condiciones normales
Control experimental (CE)	Alimento convencional y agua de mar isotónica Ad-Libitum	Bajo condiciones normales
Experimental (EA)	Alimento convencional y agua potable Ad-Libitum	Administración diaria de 50 μL de cocaína vía Intraperitoneal
Experimental (EB)	Alimento convencional y agua de mar isotónica Ad-Libitum	Administración diaria de 50 μL de cocaína vía Intraperitoneal

(n=14) cada grupo.

**Tabla 3. Análisis de varianza para un factor (ANOVA) para el parámetro Hemoglobina (Hb)**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Hb basal	Inter-grupos	18.61	3	6.21	2.37	0.08
	Intra-grupos	135.97	52	2.62		
	Total	154.58	55			
Hb intermedio	Inter-grupos	18.47	3	6.16	2.32	0.09
	Intra-grupos	137.74	52	2.65		
	Total	156.21	55			
Hb Final	Inter-grupos	95.84	3	31.95	11.95	0.00
	Intra-grupos	139.00	52	2.67		
	Total	234.84	55			

Basal: semana 0; intermedio: semana 6; final: semana 12; 1: CT, 2: CE, 3: EA, 4:EB

**Tabla 4. Test de Duncan para el Hb final (semana 12)**

Grupos 1 2 3 y 4	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1 2	1
3	14	11.07	
2	14		13.69
1	14		14.03
4	14		14.39
Sig.		1.00	0.28

1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB

**Tabla 5. Análisis de varianza para un factor (ANOVA) para el parámetro Leucocitos**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Cuentas de leucocitos basal	Inter-grupos	27488683	3	9162894	11.29	0.00
	Intra-grupos	42190087	52	811347		
	Total	69678770	55			
Cuentas de leucocitos intermedio	Inter-grupos	36883740	3	12294580	12.17	0.00
	Intra-grupos	52513887	52	1009882		
	Total	89397628	55			
Cuentas de leucocitos Final	Inter-grupos	95358776	3	31786258	20.59	0.00
	Intra-grupos	80246178	52	1543195		
	Total	175604955	55			

Basal: semana 0; intermedio: semana 6; final: semana 12

**Tabla 6. Test de Duncan para leucocitos final (semana 12)**

Grupos 1 2 3 y 4	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1 2	1
1	14	7947.86	
3	14	8027.14	
2	14	8421.43	
4	14		<u>11117.14</u>
Sig.		0.35	1.00

1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB

**Tabla 7. Análisis de varianza para un factor (ANOVA) para el parámetro Cortisol**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Cortisol basal	Inter-grupos	18.20	3	6.07	32.20	0.00
	Intra-grupos	9.79	52	0.19		
	Total	27.99	55			
Cortisol Final	Inter-grupos	13.75	3	4.58	17.03	0.00
	Intra-grupos	13.99	52	0.27		
	Total	27.75	55			

Basal: semana 0; intermedio: semana 6; final: semana 12

**Tabla 8. Test de Duncan para Cortisol final (semana 12)**

Grupos 1 2 3 y 4	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1 2	1
2	14	0.09	
1	14		1.01
4	14		1.24
3	14		1.35
Sig.		1.00	0.11

1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB

**Tabla 9. Estadística descriptiva global para el parámetro pH**

pH		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
pH basal	1	14	7.14	0.36	0.09	6.93	7.35	7.0	8.0
	2	14	7.64	0.49	0.13	7.35	7.93	7.0	8.0
	3	14	<u>7.35</u>	0.49	0.13	7.07	7.64	7.0	8.0
	4	14	7.00	0.00	0.00	7.00	7.00	7.0	7.0
	<b>Total</b>	<b>56</b>	<b>7.29</b>	<b>0.46</b>	<b>0.06</b>	<b>7.16</b>	<b>7.40</b>	<b>7.0</b>	<b>8.0</b>
pH intermedio	1	14	7.14	0.36	0.01	6.93	7.35	7.0	8.0
	2	14	8.00	0.00	0.00	8.00	8.00	8.0	8.0
	3	14	<u>5.00</u>	0.39	0.10	6.77	7.23	5.0	8.0
	4	14	7.14	0.36	0.09	6.93	7.35	7.0	8.0
	<b>Total</b>	<b>56</b>	<b>7.32</b>	<b>0.51</b>	<b>0.07</b>	<b>7.16</b>	<b>7.46</b>	<b>6.0</b>	<b>8.0</b>
pH final	1	14	7.79	0.43	0.11	7.54	8.03	7.0	8.0
	2	14	8.00	0.00	0.00	8.00	8.00	8.0	8.0
	3	14	<u>3.93</u>	0.27	0.07	6.77	7.08	3.9	7.0
	4	14	7.86	0.36	0.09	7.65	8.07	7.0	8.0
	<b>Total</b>	<b>56</b>	<b>7.64</b>	<b>0.52</b>	<b>0.07</b>	<b>7.50</b>	<b>7.78</b>	<b>6.0</b>	<b>8.0</b>

Basal: semana 0; intermedio: semana 6; final: semana 12; 1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB

**Tabla 10. Análisis de varianza para un factor (ANOVA) para el parámetro pH**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pH basal	Inter-grupos	3.28	3	1.09	6.99	0.00
	Intra-grupos	8.14	52	0.16		
	Total	11.42	55			
pH intermedio	Inter-grupos	8.78	3	2.93	28.05	0.00
	Intra-grupos	5.42	52	0.10		
	Total	14.21	55			
pH final	Inter-grupos	9.85	3	3.29	34.17	0.00
	Intra-grupos	5.00	52	0.09		
	Total	14.86	55			

**Tabla 11. Test de Duncan para el pH basal (semana 0)**

Grupos 1 2 3 y 4	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
		1	2	3
4	14		7.00	
1	14		7.14	7.14
3	14			7.35
2	14			7.64
Sig.			0.34	0.16

1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB

**Tabla 12. Test de Duncan para el pH intermedio (semana 6)**

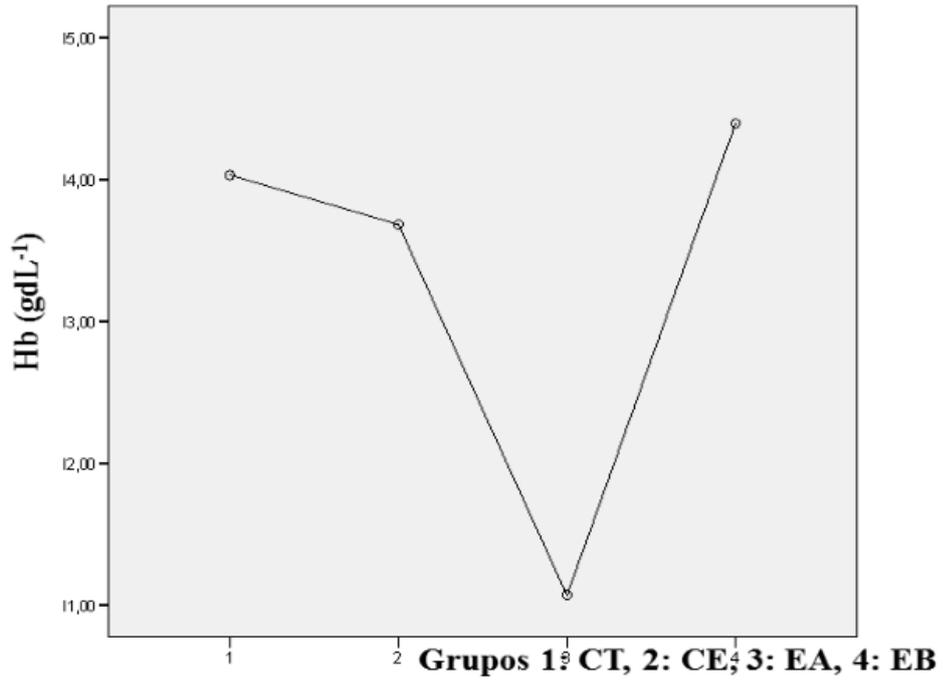
Grupos 1 2 3 y 4	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
		1 <td>2 </td>	2
3	14		7.00
1	14		7.14
4	14		7.14
2	14		8.00
Sig.			0.28

1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB

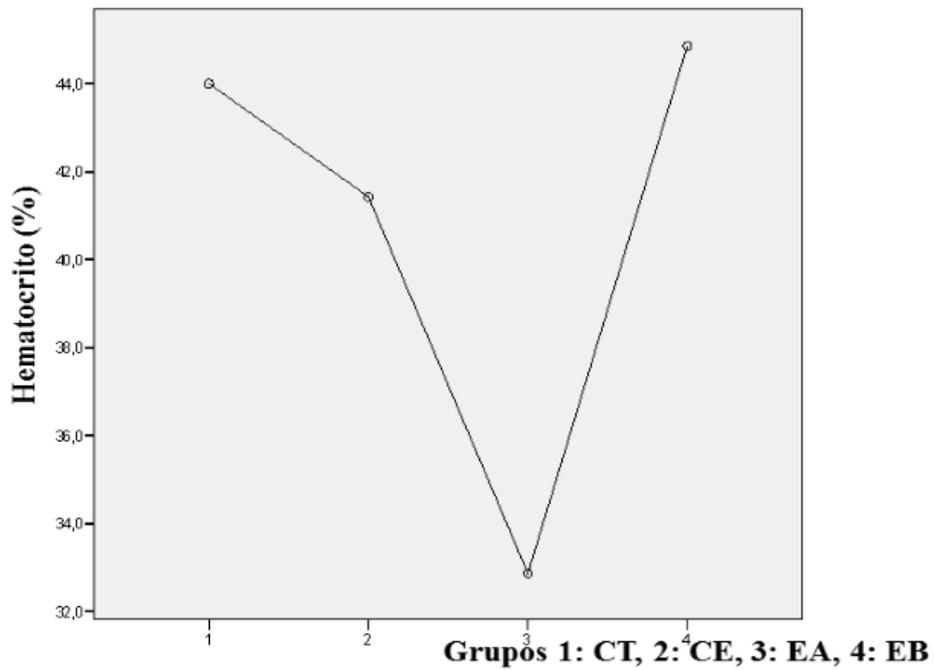
**Tabla 13. Test de Duncan para el pH final (semana 12)**

Grupos 1 2 3 y 4	N	Subconjunto para alfa =0.05	
		1	2
		1 <td>2 </td>	2
3	14		6.93
1	14		7.79
4	14		7.86
2	14		8.00
Sig.			1.00

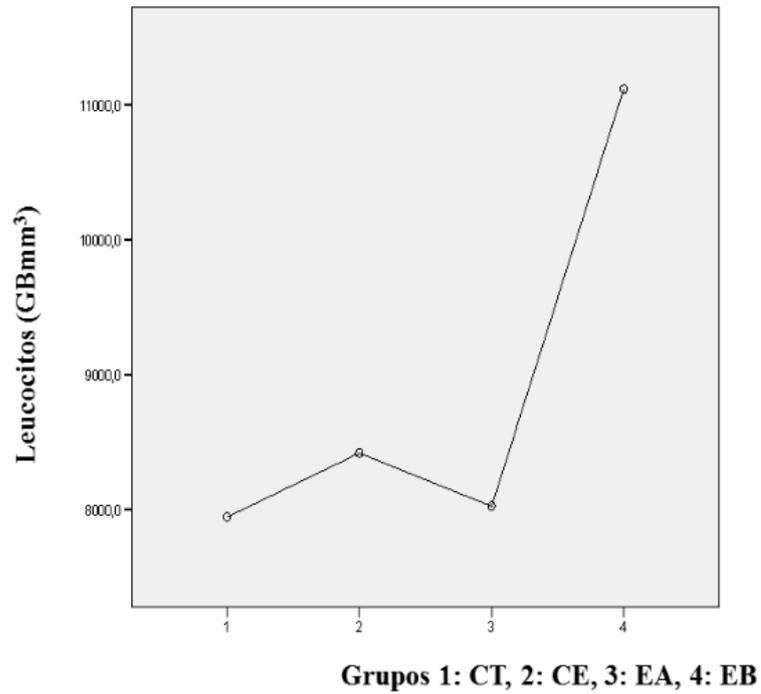
1: CT, 2: CE, 3: EA, 4: EB



**Figura 1. Comparación de los niveles de Hb final (semana 12)**



**Figura 2. Comparación de los niveles de Hematocrito final (semana 12)**

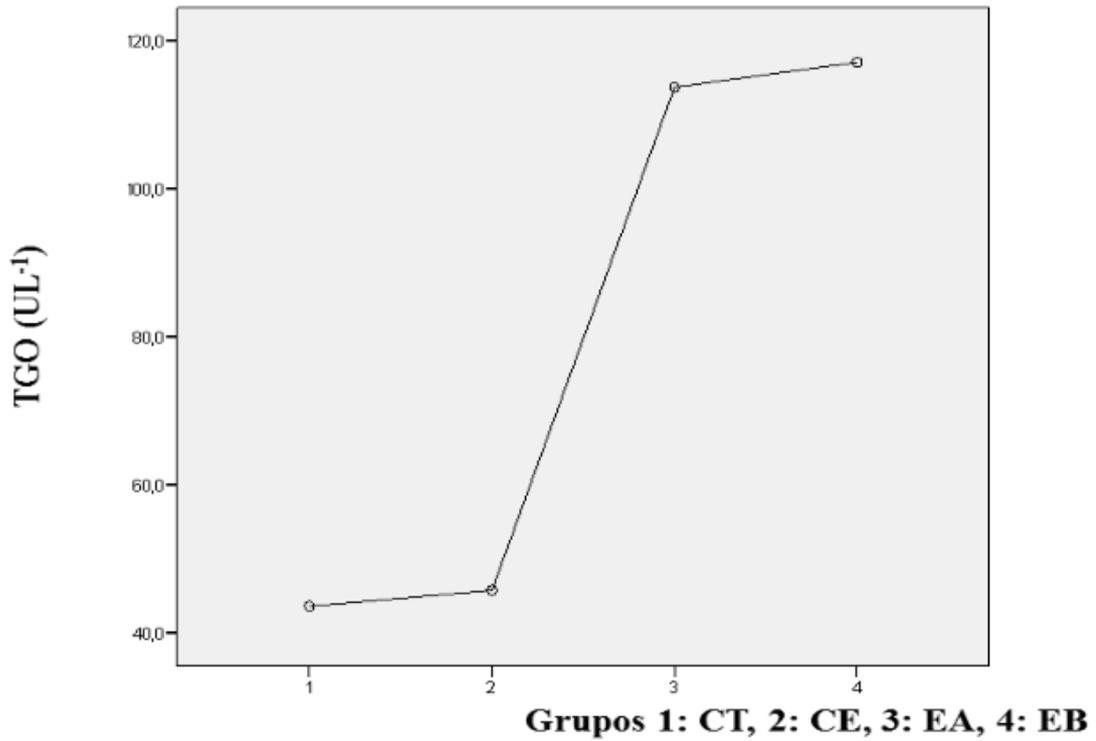


**Figura 3. Comparación de los niveles de leucocitos final (semana 12)**

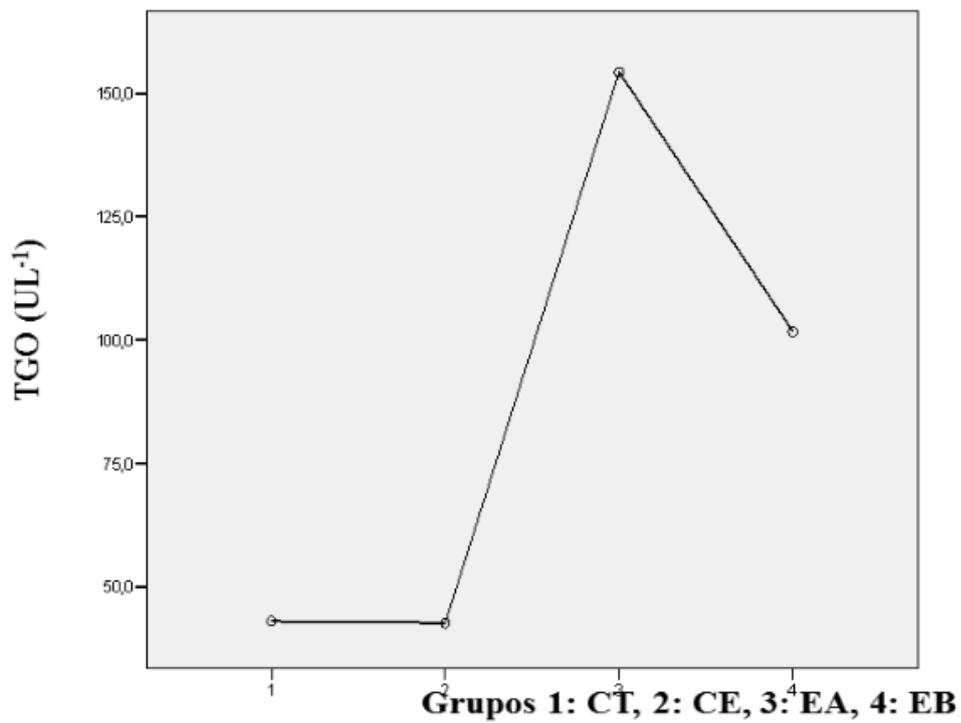


**Figura 4. Hallazgos anatomopatológicos en grupo experimental EA**

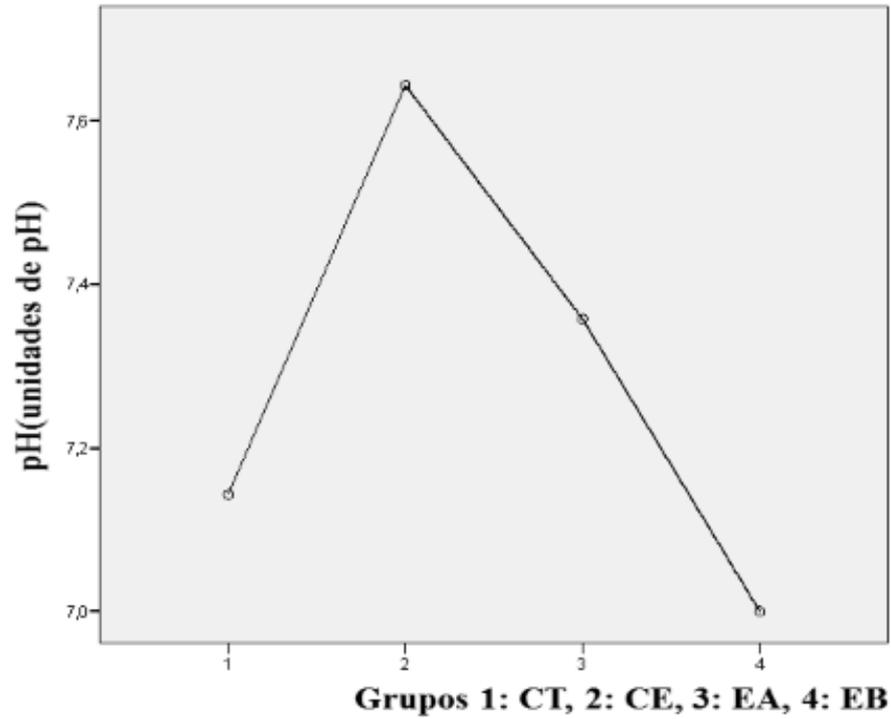
Fuente: Di Bernardo y cols (Mayo-Julio, 2015)



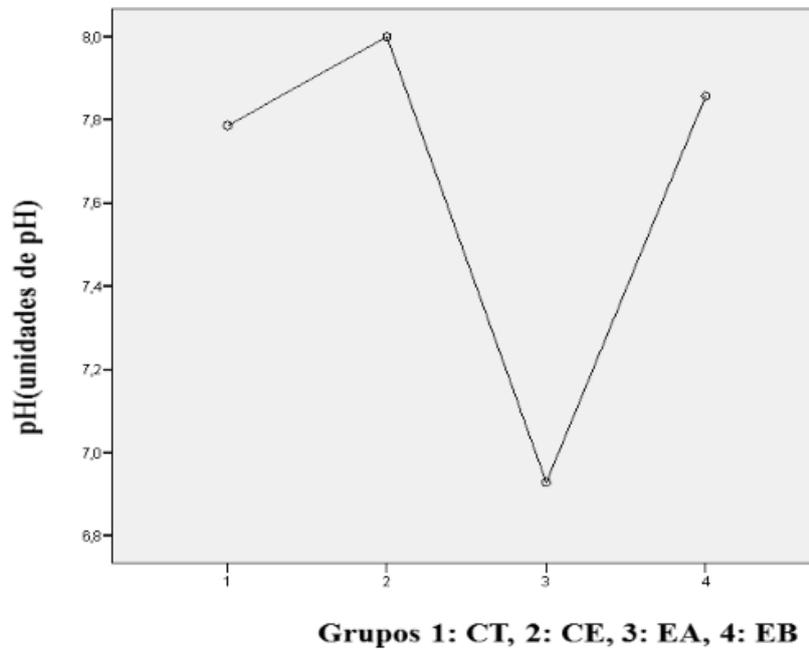
**Figura 5. Comparación de los niveles de TGO basal (semana 0)**



**Figura 6. Comparación de los niveles de TGO final (semana 12)**



**Figura 7. Comparación de los niveles de pH basal (semana 0)**



**Figura 8. Comparación de los niveles de pH final (semana 12) entre los grupos bajo estudio**

---

## Referencias Bibliográficas

1. Martínez, M. & Rubio, G. (2002). Manual de drogodependencias para enfermería. Madrid: Editorial Díaz de Santos: 49-55.
2. María Di Bernardo, Aribert Castro, Sonia Boueiri, Judith Araque, Andrés Osorio, Sulay Brito, Yasmin Morales, Rosa de Duran, Rosa Ortiz, Félix Andueza. (2014). Evaluación de la calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica del agua de mar como suplemento nutricional en modelos biológicos. RETEL. 42(2).
3. Di Bernardo M, Castro A, Morales Y, Boueiri S, Brito S, Rondón C. (2014). Valoración terapéutica del agua de mar en modelos experimentales como terapia complementaria en anemia. MÉD.UIS 27(3):9-18.
4. María Luisa Di Bernardo, Yasmin Morales, ONA-OVD. (2011). Efectos de la mezcla cocaína-levamisol sobre neurotransmisores aminoacídicos en ratones cepa NMRI. RETEL (36).
5. Yasmin Morales; María L Di Bernardo; Karibay Rivas; María Y García; Carlos E Rondón; José Rafael Luna; Lester Rodríguez V y Alexis Morales. (2008) Efecto del abuso de marihuana y cocaína en bioelementos osteoformadores. RETEL (17).
6. Gracia, A. & Bustos, H. (2005). El Poder curativo del agua de mar: Nutrición orgánica. 2da edición. Editorial Morales y Torres: 115-130.
7. Quinton, R. (1995). L'eau de mer milieu organique. Constancedu milieu marinriginel comme milieu vital des cellules, a travers la série animale. 39.a ed. París: Editions Encre,
8. Fenical, W. (1993).Chemical studies of marine bacteria: developing a new resource. Chem. Rev, 4(4):12-19.
9. Mahé, A. (1999). El Plasma de Quinton: El agua de mar, nuestro medio interno. Editorial Icaria Milenrama.
10. Silva, A., Yunes, J., Gillies, R., & Gatenby, R. (2009). The Potential Role of Systemic Buffers in Reducing Intratumoral Extracellular pH and Acid-Mediated Invasion. Cancer Research, 69(6), 2677. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2394.

- 11.**Gatenby, R., Gawlinski, E., Gmitro, A., Kaylor, B. & Gillies, R. (2006) Acid-Mediated Tumor Invasion: a Multidisciplinary Study. [Documento en Línea]. Disponible en: [http://www.phmiracleliving.com/htmlmail/2010/pHe3\\_26.html](http://www.phmiracleliving.com/htmlmail/2010/pHe3_26.html). [Consulta: 2016, Febrero 14].
- 12.**Young, R. & Redford S. (2012). La Milagrosa Dieta del pH. Barcelona: Ediciones Obelisco-Edición traducida al español.
- 13.**El Biomagnetismo como alternativa en los Programas de Salud. (1991). Medicinas Alternativas y Rehabilitación, S.A. De C.V. México.
- 14.**El Par Biomagnético, Goiz Duran Isaac. (2000). Ed. Medicinas Alternativas y Rehabilitación, S.A. México.
- 15.**Healing with Magnets. Null Gary, Carrol, and Graft (1998). Publisher, Inc. New York, U.S.A.
- 16.**Jaime, J.C. & Gomez, D. (2009). Hematología: la sangre y sus enfermedades. 2da edición. México D.F, México: Editorial Mac Graw Hill: 239-259.
- 17.**Turgeon, M. L. (2006). Hematología clínica. Teoría y procedimientos. México, México: Editorial Manual moderno: 670-701.
- 18.**Tsuchiya, Y., Atsuo, W., Nobuyoshi, F., Takushi, K., Teiji, I., Takanori, F., Kazutoshi, N. & Masaharu, Y. (2004). Effects of desalted deep seawater on Hematologic and blood chemical values in mice. *Tohoku J. Exp. Med*, 5(2)230-256.
- 19.**Goeb, P. (2011). Plasma marino y plasma humano. Su identidad fisiológica de cara a la regeneración del medio interior. Aplicación terapéutica. (Folleto), 2da edición.
- 20.**Rodés, J. & Guardia, J. (1993). El Manual de Medicina. Madrid, España: Salvat Editores: 2081-2090.
- 21.**Baynes, J. & Dominiczak, M. (2009). Medical Biochemistry. 3th edition. Editorial Elsevier Limited: 490-550.
- 22.**Chevalier, P. (1997). Malnutrición y sistema inmunitario. *Mundo Científico*, 177(3): 217-219.
- 23.**Dardenne, M. (2002). Zinc and immune function. *Eur J Clin Nutr*, 56(3): 520-523.

- 
24. Krutchkoff D, Eisenberg E, O'Brien J, Ponzillo J. (1990) Cocaine-induced dental erosion. N Engl J Med . 322(6):408.
25. Myers P. (2002). Drug abuse. Sitio Web en Internet. Acceso: 7 de febrero de 2016. Disponible en: <http://www.utmb.edu>

**Recibido: 28/03/16**

**Aceptado: 29/03/16**