

Capacidad antioxidante de la balneoterapia con aguas minero-medicinales sulfuradas y sulfatadas

A. Hernández Torres^{DH1)}, J.R. Ramón^{FC2)}, E. Cuenca Giralde^{DH3)}, A. Casado^{BBFC4)}, E. López Fernández^{Z4)}

¹⁾ Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Instituto de Salud "Carlos III". ²⁾ Centro Nacional de Enfermedades Raras. ³⁾ Instituto de Salud "Carlos III". ⁴⁾ ASEPEYO. ⁴⁾ Centro de Investigaciones Biológicas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Madrid (ESPAÑA).

^{D)} Doctor; ^{H)} Médico Hidrólogo; ^{B)} Biólogo; ^{FC)} Farmacéutica; ^{FC)} Farmacólogo, Cardiólogo; ^{T)} Técnico de Laboratorio.

RESUMEN:

El conocimiento del estado oxidativo mediante la medida de la producción urinaria de las Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), es una fuente básica de información sobre el proceso de lipoperoxidación humana y envejecimiento. Nuestro equipo de investigación lleva más de una década trabajando en la determinación de TBARS y su modificación por la crenoterapia con aguas que tengan presencia de azufre, comprobando con anterioridad que la crenoterapia con aguas minero-medicinales sulfuradas disminuía la producción de TBARS, probablemente debido a la absorción del azufre e incremento de radicales SH en la cisteína del tri péptido glutatión, que actuaría como antioxidante y barredor (Scavenger) de Radicales Libres.

Objetivo: Estudiar si la eliminación urinaria de TBARS se encuentra modificada también por la crenoterapia con aguas bicarbonatadas-sulfatadas.

Material y métodos: Estudio clínico prospectivo, realizado en el balneario de aguas bicarbonatadas-sulfatadas de Jaraba-Sicilia (Zaragoza), en tres épocas distintas del año, con 120 voluntarios del Programa de Termalismo Social del IMSERSO, 60 hombres y 60 mujeres (edad media 70,9±0,5 años), no existiendo diferencia estadísticamente significativa (d.e.s) entre la edad de ambos grupos, homogéneo en su conjunto, de muestras pareadas dependientes e igual tamaño. Se obtuvieron muestras de orina para determinar la concentración de TBARS mediante espectrofotometría a la llegada al balneario, a los 9 y a los 14 días de la crenoterapia; se les realizó historia clínica completa y se valoraron diferentes variables médicas, sociales y climatológicas del lugar de tratamiento, después de aplicar crenoterapia por vía tópica (baños entre 37,5-39°C, 15') y/o hidropínica. Las muestras urinarias fueron analizadas, siguiendo una modificación de la técnica descrita en 1978 por Mihara et al.

Se estudiaron diferentes variables, como la edad, sexo, estado oxidativo, pretratamiento, origen de la población, duración mínima del tratamiento, vías de administración del tratamiento, tensión arterial, hábitos, elementos climatológicos, influencia de la época del año sobre el tratamiento, etc. (motivo de la realización de otros artículos).

Resultados: La producción urinaria de peroxidación lipídica (TBARS) en orina, principalmente Malondialdehído fue a la llegada de 0,368±0,0095 nM/ml y tras 14 días de crenoterapia de 0,337±0,0083, siendo el beneficio postcrenoterápico obtenido en su estado oxidativo (Efecto Terapéutico, ET) de -0,031±0,0017 (-8,4%). La disminución de los niveles de oxidación obtenidos presentó d.e.s. (p<0,001) en toda la población estudiada. El ET fue independiente de la edad y sexo, aunque ligeramente mayor en las mujeres.

Conclusión: El beneficio postcrenoterápico obtenido con aguas bicarbonatadas-sulfatadas sobre el estado oxidativo de la población estudiada es claramente antioxidante e independiente de la edad y sexo.

Palabras clave: Crenoterapia, Aguas mineromedicinales sulfuradas y sulfatadas, Antioxidantes, Barredores de Radicales Libres, Envejecimiento, Peroxidación lipídica.

ABSTRACT:

Purpose: The measurement of urinary production of Thiobarbituric Acid Reactant Substances (TBARS) from an homogeneous population (within a control environment) provides us with a huge amount of information about the process of human lipoperoxidation or aging.

The crenotherapy treatment, using bicarbonated-sulfated mineral waters, decreases the TBARS production. It is probably due to the sulphur absorption which increases the -SH radicals included in the glutathion tripeptid. These -SH radicals work like free radicals scavengers.

Objective: To study and evaluate the effects of crenotherapeutic treatment with bicarbonated-sulfated waters, in order to obtain significant results in a spa population of people over 65.

Material and methods: Prospective clinical study, performed in the spa with bicarbonated-sulfated waters found in Jaraba-Sicilia (Zaragoza), in three different time periods, with 120 volunteers from the Social Thermalism Program of the IMSERSO, 60 men and 60 women (average age 70,9±0,5), with no statistically significant (ss) difference in the age of both groups. The groups were homogeneous overall, dependently paired samples, and of the same size. Urine samples were obtained in order to determine the concentration of Thiobarbituric Acid Reactive Species (TBARS) through spectrophotometry on arrival at the spa, after 9 and 14 days of treatment. A complete case history was done and the different medical variables were evaluated after topical application of crenotherapy (baths between 37,5-39°C, 15') and/or hydromineral application. The urinary samples were analyzed following a modification of the technique described in 1978 by Mihara et al.

Results: Urinary production of lipid peroxidation products (TBARS), mainly Malondialdehyde, was 0.368±0.0095 nM/ml on arrival, 0,352±0,0088 nM/ml after 9 days of treatment, and 0,337±0,0083 nM/ml at the end of the treatment, after 14 days of crenotherapy. The post-crenotherapeutic benefit obtained in the oxidative state (Therapeutic Effect, ET) was -0,016±0,0019 (4,35%) after nine days. This benefit doubled after 14 days, -0,031±0,0017 (8,4%). The decrease obtained in the oxidation levels was statistically significant (p<0,001) in all the population studied.

Conclusions: The Crenotherapeutic treatment using bicarbonated-sulfated mineral waters decreases the urinary production of TBARS (Therapeutic Effect, TE). It occurs either in men or women, or in both (when they are studied together). Therefore, the TE is not related to sex. This suggests a shift of the patients oxidative balance towards the antioxidant side.

There is evidence that from the ninth day onwards of treatment with bicarbonated-sulfated waters, the antioxidant Therapeutic Effect becomes effective and statistically significant in the population studied, which coincides with the physical improvement observed. This Therapeutic Effect doubles if the treatment is extended from 9 to 14 days.

Key Words: Crenotherapy, Sulphured and sulfated Mineral Waters, Antioxidants, Free Radical Scavengers, Aging, Lipid-Peroxidation.

INTRODUCCIÓN

El *estrés oxidativo* es el efecto que producen los Radicales Libres de Oxígeno (RLO) en los organismos vivos, dependiendo no sólo de la agresividad química del propio oxidante, sino también de la cantidad de éstos y del tiempo de exposición, así como del tipo de tejido que sufra el efecto y de la eficacia de las defensas antioxidantes disponibles (1, 2). Según Múez y cols. (3) la concentración de MDA en pacientes donde interviene el estrés oxidativo, tratados con fármacos antioxidantes en un estudio a doble ciego, demuestra una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en los niveles de concentración de MDA.

Diferentes autores (4-11) consideran que la causa esencial del envejecimiento es la producción de radicales libres en las crestas de la membrana interna de

las mitocondrias, con la consiguiente lesión de ADN mitocondrial, la pérdida de la capacidad de regeneración y el aumento de las alteraciones metabólicas.

En las mitocondrias es donde se realiza el transporte de electrones, siendo la principal fuente de radicales libres y su diana más importante. El ADN mitocondrial es particularmente sensible a su acción, como han demostrado Barja y Herrero (12). Miquel propone que el envejecimiento es un resultado no programado pero inevitable de la desorganización desde el ataque de los radicales libres a las células diferenciadas a término, siendo las mitocondrias la diana primaria (13).

Estudios realizados con anterioridad en el Balneario de Archena (14) (aguas sulfuradas) establecieron de una manera estadísticamente significativa que la disminución de los productos de lipoperoxidación (como marcador de envejecimiento) producida tras la

crenoterapia con aguas minero-medicinales sulfatadas sobre el estado oxidativo de la población estudiada, fue claramente antioxidante.

En base a ello, se trabajó con la hipótesis de que el tratamiento con aguas minero-medicinales bicarbonatadas sulfatadas, podría ser una variable influyente en el balance oxidativo humano de los pacientes tratados crenoterápicamente en un balneario con este tipo de aguas (15, 16, 17), siendo el objetivo general, comprobar si las aguas minero-medicinales bicarbonatadas sulfatadas, tenían propiedades antioxidantes en una población mayor de 65 años receptora del tratamiento con este tipo de aguas en un balneario, incluido en el Programa de Termalismo Social del IMSERSO.

Se establecieron como objetivos específicos, la descripción y comparación del estado oxidativo de los pacientes antes, durante y después de la crenoterapia, examinando las variables que explican las diferencias en los estados oxidativos antes y después del tratamiento que, presumiblemente, podrían incidir en la modificación del equilibrio oxidativo, con el fin de evitar la peroxidación lipídica de los pacientes tratados y evaluando las interacciones con las variables: sexo, edad, tensión arterial, elementos climatológicos, hábitos, vías de administración del tratamiento, influencia de tratamientos farmacológicos, etc.

Por último se comparó algunos de los resultados obtenidos con los estudios realizados en Archena.

MUESTRA POBLACIONAL

Se trata de un estudio clínico prospectivo, realizado en el balneario de aguas bicarbonatadas-sulfatadas de Jaraba-Sicilia (Zaragoza), en tres épocas distintas del mismo año, con diferentes horas de insolación, con 120 voluntarios del Programa de Termalismo Social del IMSERSO, 60 varones y 60 mujeres de edad media $70,9 \pm 0,5$ años, no existiendo diferencia estadísticamente significativa (d.e.s) entre la edad de ambos grupos, homogéneo en su conjunto y de muestras pareadas dependientes e igual tamaño. Todos los individuos integrantes del trabajo fueron, previamente, informados del estudio que se iba a realizar y dieron su conformidad para ser incluidos en el mismo.

En todos ellos se determinó, en orina, la concentración de Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) mediante espectrofotometría. Se toma-

ron muestras a su llegada al balneario, a los 9 y a los 14 días de tratamiento, para determinar el estado oxidativo antes, durante y después de la crenoterapia. A todos los integrantes del estudio se les realizó historia clínica completa y se valoraron diferentes variables médicas tras aplicar crenoterapia por las siguientes vías de administración (18):

1. Vía tópica (absorción a través de la piel) (19, 20). Se aplicaron baños termales generales con agua minero-medicinal en bañera de balneación simple. Los baños se aplicaron a una temperatura de 37,5-39° C, con una duración de quince a veinte minutos. También se administraron chorros a media presión y temperatura entre 39 y 42° C, con salida única, dando lugar a una intensa acción mecánica (presión) y térmica. A continuación de recibir el baño, se procedió a producir una fase de hipersudoración que facilitara la reacción orgánica mediante un periodo de descanso con la cobertura total del cuerpo con mantas, durante 30-60 minutos/día.
2. Vía inhalatoria. Se utilizaron una serie de técnicas combinadas con las que se intentó hacer llegar el agua minero-medicinal del manantial y sus gases a los distintos sectores del árbol respiratorio. Estas técnicas fueron: inhaladores y propulsores de chorros para lavados nasales y gargarismos. Nebulización colectiva en sala. Nebulización individual nasofaríngea. Estufa húmeda colectiva.
3. Vía hidropónica o de bebida. Se prescribió la ingesta de 1,8 litros de aguas minero-medicinales bicarbonatadas sulfatadas cálcico-magnésicas, mesotermales, declaradas de utilidad pública, en tres tomas repartidas a lo largo del día.

Durante los catorce días del tratamiento termal se realizó un régimen de comidas distribuido en desayuno, comida y cena, con dietas diarias entre 2.000 y 2.500 calorías, con agua del propio manantial (sulfatadas) durante las comidas y 250 cc de vino. La dieta alimenticia basada en la dieta mediterránea fue rica en verduras, frutas, cereales y leguminosas y moderado consumo de lácteos, pescados y carnes. Los voluntarios realizaron un inhabitual ejercicio físico moderado, superior a 60-90 minutos diarios de paseos y caminatas y en algunos casos, ejercicios opcionales de natación en piscina.

Técnica de detección en orina humana de productos de peroxidación lipídica

La metodología utilizada es una modificación de la realizada por Uchiyama M. y Mihara M. (21) descrita en 1978, que en la década de los noventa comenzó a utilizarse y perfeccionarse (22, 23) en productos humanos de peroxidación lipídica (orina), sirviendo de indicador del estado oxidativo de los pacientes (24). Esta técnica refleja la peroxidación lipídica produciendo diferentes productos característicos de la peroxidación. El estrés oxidativo influye sobre el incremento y la degradación del MDA (25).

A 0,14 ml de cada muestra de orina (una vez descongelada) se le añade 1 ml de ácido fosfórico y 33 ml de butilhidroxitolueno (antioxidante) haciendo lo mismo con un "blanco" que sirvió de punto de referencia en la medición con espectrofotómetro, para evitar la sobrevaloración de los niveles de absorbancia y transmitancia. A continuación se añadió 0,3 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA), se hirvió durante 45 minutos y después de enfriar los tubos, se añadió 1,4 ml de N-butanol para separar la fase orgánica. Se centrifugó a 4.000 rpm durante 14 minutos, manteniendo los tubos de ensayo a una temperatura de 5° C, se recogió la fase orgánica y se midió en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 535 nm.

Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo con muestras apareadas dependientes, de igual tamaño. El estudio se diseñó para que cada sujeto fuera su propio control a la llegada al balneario. Por ello se trabajó con muestras de igual tamaño y con los mismos individuos antes y después del tratamiento (homogeneidad de dos medias en datos apareados) estando los valores medidos relacionados, pues cada sujeto presentó uno antes, otro a la mitad y un tercero al finalizar el tratamiento, considerándose las dos muestras como una sola, tomando en vez de la serie doble de valores (antes, al noveno día y al final del tratamiento) una única serie de incrementos, es decir la serie de diferencias (positivas o negativas) entre los datos de cada paciente antes y después del tratamiento (Efecto Terapéutico). De esta forma se simplificó el estudio y siendo más exacto y teniendo su propia media y EEM. El hecho de que los propios voluntarios constituyeran el grupo control a su entrada al balneario, reforzó el análisis estadístico.

Todos los valores obtenidos se expresaron como Media \pm Error Standard de la Media (EEM). Los valores de TBARS se expresaron como nM/ml urinarios de Malondial-dehído (MDA). Los datos no apareados obtenidos fueron comparados mediante el test de la "t" de Student, previa prueba de Snedecor y correspondiente corrección de Welch, cuando las varianzas no eran homogéneas y mediante comparación de medias, en el caso de datos apareados (Test de Friedman y Wilcoxon). Se realizó ANOVA para comparaciones múltiples. Ocasionalmente se utilizó el método de Wilcoxon, Kruskal-Wallis y Bonferroni para comparar más de dos medias, así como la regresión múltiple. El cálculo del tamaño muestral "n" se calculó en base a diferencias de las varianzas (s^2) de datos apareados. Se consideró significativo $p < 0,05$.

RESULTADOS

Efecto crenoterápico en la eliminación urinaria de TBARS

La excreción urinaria de TBARS, principalmente de malondialdehído (MDA), en el grupo total, que incluía hombres más mujeres, antes de recibir tratamiento a su llegada al Balneario (estado oxidativo basal) fue de $0,368 \pm 0,095$ nM/ml, a los 9 días de tratamiento de $0,352 \pm 0,0088$ y al finalizar el mismo después de 14 días de tratamiento (estado oxidativo post-tratamiento) de $0,337 \pm 0,0083$ nM/ml, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa (d.e.s) en la eliminación urinaria de TBARS ($p < 0,001$) en toda la población estudiada (26). Estos resultados también han sido expresados según el sexo (*Tabla I, Figuras 1 y 2*).

El Efecto Terapéutico (ET) es la diferencia entre los niveles de eliminación urinaria de TBARS al llegar al balneario (estado oxidativo basal) y al acabar el tratamiento. En los resultados obtenidos, se comprobó que a medida que aumentaba el número de días de tratamiento, el ET era mayor (*Figura 4*).

Tanto en hombres como en mujeres los resultados fueron casi similares. Sin embargo, es de destacar que las mujeres obtuvieron un ET ligeramente más marcado (9% de disminución) que los hombres (7,8% de disminución) (*Tabla I*) (*Figuras 1, 2 y 4*). El ET fue efectivo tanto en hombres como en mujeres, analizados conjunta o separadamente, confirmando-se la eficacia del tratamiento e independencia del sexo (*Tabla II*).

EFECTO CRENOTERÁPICO EN LA ELIMINACIÓN URINARIA DE TBARS

CONTROL/POSTRATAMIENTO	HOMBRES (n=60)	MUJERES (n=60)	TOTAL (H+M) (n=120)
CONTROL Media ± EEM	0,369 ± 0,0136	0,367 ± 0,0134	0,368 ± 0,0095
MITAD Media ± EEM	0,353 ± 0,0126	0,351 ± 0,0124	0,352 ± 0,0088
POSTRATAMIENTO Media ± EEM	0,340 ± 0,0123	0,334 ± 0,0114	0,337 ± 0,0083
Efecto Terapéutico (ET) Media ± EEM	0,029 ± 0,0018	0,033 ± 0,0029	0,031 ± 0,0017
% disminución	7,8%	9%	8,4%
SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA (BONFERRONI)			
CONT-POST	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
CONT-MITAD	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
MITAD-POST	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA DE LA ELIMINACIÓN URINARIA DE TBARS ENTRE HOMBRES Y MUJERES ANTES Y DESPUÉS DE LA CRENOTERAPIA

CONTROL/POSTRATAMIENTO "t" de Student	Significación Estadística CONT-CONT	Significación Estadística MITAD-MITAD	Significación Estadística POST-POST	Significación Estadística ET-ET
HOMBRES y MUJERES (n ₁ = 60) + (n ₂ = 60) = 120	n.s. p = 0,9165	n.s. p = 0,9183	n.s. p = 0,7593	n.s. p = 0,8

41

Como se puede observar (*Tabla 1*), la disminución urinaria de TBARS, tanto en hombres como en mujeres, comienza a apreciarse, de una manera estadísticamente significativa ($p < 0,01$), en los resultados de los análisis realizados al noveno día del tratamiento (variable "Mitad"), consiguiéndose desde entonces un efecto terapéutico antioxidante eficaz. Además, continuándolo hasta el decimocuarto día, el efecto antioxidante total se vio potenciado, ya que los niveles urinarios de TBARS continuaron disminuyendo entre el noveno y decimocuarto día en el cual se duplicó el ET obtenido (8,4%) (*Figura 4*).

El análisis mediante Regresión Lineal entre el estado oxidativo basal (CONT) y el estado oxidativo postratamiento (POST) y la diferencia entre ambos (ET), mostró que existía una correlación positiva entre estas variables (*Figura 3*). El coeficiente de correlación (r) varía entre 0,995 y 0,986 para POST y 0,795 y 0,755 para ET.

Estudiadas, mediante regresión paso a paso, las diferentes variables que pudieran influir sobre el estado oxidativo basal, se observó que la única que tenía un peso importante fue la "época del año" (27). Por el contrario, en el resultado final post-tratamiento, además de la citada variable, aunque en menor medida, también influyeron el estado oxidativo basal, la tensión arterial y la crenoterapia con aguas bicarbonatadas sulfatadas administradas hidropínicamente (28).

Como era de esperar, el descenso de TBARS fue tanto mayor cuanto más superior fuera el valor al principio (estado basal).

Entre las múltiples variables estudiadas para ver su influencia y peso específico sobre la producción final de TBARS analizadas mediante la técnica estadística denominada "Regresión paso a paso" ("Stepwise backwards"), ni las patologías, ni el sexo, ni el origen o la edad de los voluntarios lo hicieron de una

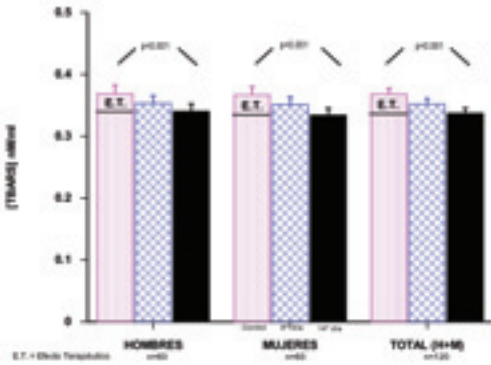


Fig. 1. Eliminación urinaria de TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico), principalmente Malondialdehído (MDA) expresada en nM/ml, antes, durante y después de la crenoterapia (Balneoterapia), clasificados según sexo. Valores expresados como Media \pm Error Standard de la Media. Nótese como tras el tratamiento, el contenido urinario de TBARS es significativamente menor que a la entrada. La diferencia de valores entre la excreción urinaria antes del tratamiento (Control) y después del mismo (Postratamiento) es el denominado Efecto Terapéutico (ET).
A: Rayado vertical = Control. B: cruzado (en X) = 9º día Tto. C: Oscuro = 14º día de Tt. (Final).

42

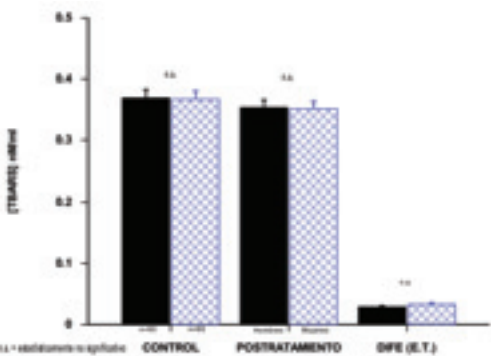


Fig. 2. Eliminación urinaria de TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico), principalmente Malondialdehído (MDA) expresada en nM/ml, antes y después de la crenoterapia (Balneoterapia), entre hombres y mujeres comparados entre sí. Valores expresados como Media \pm Error Standard de la Media. Nótese como no se produce significación estadística entre sexos, lo que confirma que tanto hombres como mujeres se beneficiaron del tratamiento. La diferencia de valores entre la excreción urinaria antes del tratamiento (Control) y después del mismo (Postratamiento), es el denominado Efecto Terapéutico (ET).
Mujeres = cruzado (en X). Hombres = Oscuro.

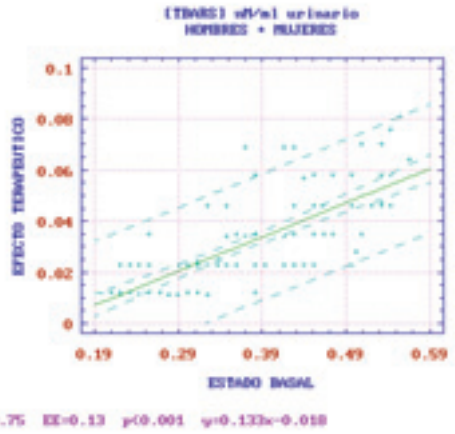


Fig. 3. Regresión lineal entre el Estado oxidativo basal (antes del tratamiento) y el Efecto Terapéutico obtenido tras crenoterapia de 14 días. Nótese la relación directamente proporcional entre un valor y otro.

manera significativa. Sin embargo, se comprobó que las variables más influyentes fueron la estación climatológica del año en que se realizó el tratamiento, el estado oxidativo basal de los pacientes, así como las radiaciones solares recibidas durante el mismo, y por supuesto la cura hidropínica del tratamiento con aguas bicarbonatadas sulfatadas y la tensión arterial, así como la balneación en las aguas sulfuradas.

En relación a los "efectos antioxidantes" de las aguas y relacionado con la absorción del azufre, es destacable que en los balnearios con aguas sulfuradas, el azufre en forma de sulfuro de hidrógeno (SH₂), se absorbe tópicamente (en balneación a través de la piel) a razón de 10ml/cm²/hora, produciendo el efecto antioxidante descrito. Sin embargo, en el balneario ahora estudiado, la absorción del azufre, en forma de sulfato (SO₄⁻), es 100 veces inferior, concretamente de 0,1 ml/cm²/hora o menos, siendo en consecuencia mínima la absorción por vía tópica, pero sin embargo máxima por vía digestiva, al realizar cura hidropínica, hecho que no se producía en balnearios de aguas sulfuradas, al no beberse sus aguas (19, 20).

En relación a la duración mínima del tratamiento balneario para conseguir un efecto antioxidante, desde que se utilizan los tratamientos balnearios, siempre ha existido la duda sobre el tiempo mínimo necesario para que dicho tratamiento fuera efectivo. Formaba parte de la tradición balnearia realizar la llamada "la novena", que se correspondía con la duración mínima

de nueve días continuados de tratamiento y estancia balnearia, para conseguir los efectos beneficiosos de la cura balnearia, hechos que han sido observados durante años.

Hasta ahora, la subjetividad ha jugado un papel importante en la respuesta, pero su medición objetiva se podría realizar mediante la valoración del estado oxidativo de los pacientes al coincidir la mejoría física que se manifiesta, con la disminución de sus niveles de peroxidación lipídica.

Los efectos antioxidantes de las aguas minero-medicinales con presencia de azufre y las técnicas hidrológicas que con ellas se prescriben, abren nuevas vías terapéuticas para tratar la inflamación y los procesos degenerativos, actuando también contra el propio proceso natural del envejecimiento, retrasando su avance.

La duración del tratamiento fue de 14 días, obteniéndose significación estadística en la eliminación urinaria de TBARS desde el noveno, aunque el porcentaje de disminución siguió potenciándose hasta el final del tratamiento, siendo del 8,4% en lugar del 4,35% obtenido al noveno día de tratamiento, lo cual sugiere un efecto acumulativo en el tiempo de tratamiento (29, 30).

Con respecto a la influencia de la edad y la crenoterapia sobre el estado oxidativo humano, es sabido que los niveles de oxidación se incrementan con los años. La disminución de los niveles de oxidación obtenidos antes del tratamiento y al finalizar el mismo presentó d.e.s. ($p < 0,001$) en todos los grupos clasificados por tramos de edad, siendo de aproximadamente del 8% (31).

La regresión lineal entre los participantes concluyó que la variable "edad", con rango comprendido entre los 55 y 85 años, no fue determinante sobre el efecto antioxidante conseguido tras la crenoterapia, ya que se beneficiaron todos los voluntarios del estudio (32). Aparentemente, también es de destacar, el mayor nivel de oxidación de los hombres mayores de 76 años, con respecto a las mujeres del mismo grupo de edad, aunque no se pudo demostrar existiera d.e.s. entre sí. No existió d.e.s. entre los niveles basales (variable dependiente) de eliminación urinaria de TBARS entre los distintos grupos de edad, ni tampoco entre los ET, lo que confirma que la edad (variable independiente) no influye sobre el resultado.

Es decir, el beneficio postcrenoterápico obtenido con aguas bicarbonatadas-sulfatadas sobre el estado oxidativo de la población estudiada fue claramente

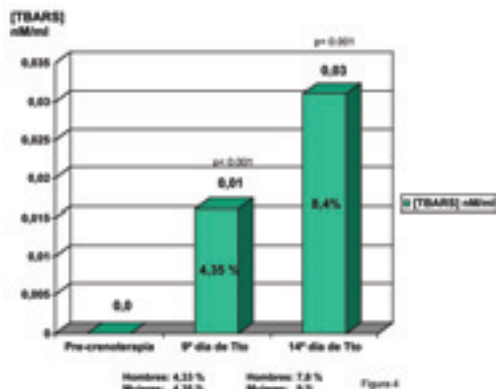
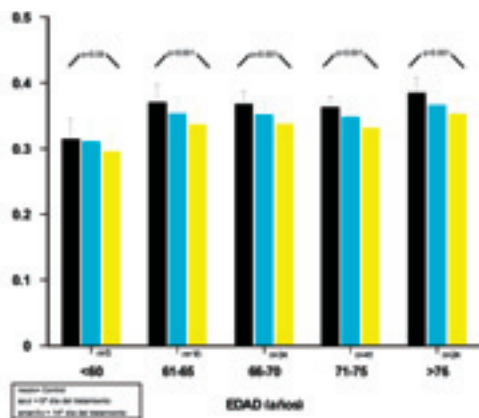


Fig. 4. *Porcentajes medios entre hombres y mujeres, de disminución de los niveles de eliminación urinaria de TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico) obtenidos, principalmente Malondialdehído (MDA) expresados en nM/ml, a lo largo de los 14 días de crenoterapia. Nótese como los porcentajes de disminución obtenidos en hombres y mujeres son muy similares, siendo ligeramente superiores, sobre todo al final del tratamiento, en mujeres.*



antioxidante e independiente de la edad y sexo, al producirse en todos los tramos piramidales de edad establecidos.

Este estudio se ha completado con el seguimiento de otras variables que ha dado lugar a la realización de otros artículos científicos, cuyas principales conclusiones están relacionadas con la disminución de la tensión arterial, entre un 6 y un 13%, en aguas sulfuradas (33, 34) y ninguna modificación en aguas bicarbonatadas sulfatadas (35), posiblemente debido a la presencia de sodio en éstas y su absorción por vía hidropícnica, que al mismo tiempo ha sido esencial para obtener el Efec-

to Terapéutico, así como la balneación en las aguas sulfuradas (36, 37). El perfil especial de los voluntarios asistentes a balnearios, con índices de fumadores del 9,16% y de bebedores de 2,5%, estando muy por debajo de la media española, lo que confirma que la población usuaria de balnearios tiene un alto concepto y preocupación del sentido y uso de la salud. El lugar de origen de la población, rural o urbano, no fue una variable que influyera ni sobre el resultado final obtenido, ni sobre el estado oxidativo de los pacientes antes del tratamiento. Influencia específica de cada variable en el resultado final obtenido: siendo la variable más influyente la época del año, el estado oxidativo antes de tratarse y el tratamiento balneario.

CONCLUSIONES

1. La técnica empleada en este estudio no es invasiva, de fácil manejo e indicadora del nivel de oxidación de los voluntarios tratados.
2. La balneoterapia con aguas sulfuradas y con aguas bicarbonatadas-sulfatadas conlleva un efecto barrador de radicales libres, que demora el proceso de envejecimiento en la población estudiada, independiente del sexo y que sugiere un desplazamiento del balance oxidativo hacia el lado antioxidante.

44

BIBLIOGRAFÍA

1. Sies H. "El estrés oxidativo: de la investigación básica a la aplicación clínica". Amer Jour of Med. 1993 (suppl 3c): 31s-38s.
2. Sies H. "Oxidative stress: oxidants and antioxidants". London: Academic Press. 1991.
3. Müzes M. "Effects of silymarin treatment on the antioxidant defence system and lipid peroxidation in patients with chronic alcoholic liver disease". Orvosi Hetilap 1990; 131: 863-866.
4. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. "Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common". Science. 1954; 67: 623-626.
5. Harman D. "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry". J Gerontol. 1956; 11: 298-300.
6. Harman D. "La teoría gerontológica de los radicales libres". En: Emerit L, Cance B, editors. Free radicals and aging. Basel: Birkhauser, 1992; 1-10.
7. Miquel J. "Historical Introduction to Free Radical and Antioxidant Biomedical Research". En: Miquel J,

3. Existe una relación importante entre el estado de oxidación con el que llega un paciente al balneario y el Efecto Terapéutico que se puede conseguir.
4. Este estudio coincide con la antigua observación balnearia, denominada "la novena" (son suficientes un mínimo de nueve días de tratamiento para obtener una mejoría física), que se puede evidenciar con un Efecto Terapéutico antioxidante eficaz, efectivo y estadísticamente significativo respecto a la llegada, potenciándose al doble, si se continúa hasta los 14 días de tratamiento.
5. Cualquier paciente, independientemente de su edad (55-85 años), puede obtener el Efecto Terapéutico antioxidante

CORRESPONDENCIA

Dr. Antonio Hernández Torres
Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias (AETS). Instituto de Salud "Carlos III" - Ministerio de Sanidad y Consumo
C/ Sinesio Delgado, 6 - Pabellón 4 (28029 - MADRID)
Tel.: +34 91 822 20 22 / 387 78 26
Fax: +34 91 387 78 41
e-Mail: hertoran@isciii.es

- Quintanilha AT, Weber H. eds: CRC Hand book of free Radicals and antioxidants in Biomedicine. Boca Raton. Florida. CRC Press. 1989; I: 3-13.
8. Miquel J. "Papel de los oxirradicales libres y mitocondrias en el envejecimiento: conceptos teóricos y datos experimentales". Rev Esp Geriatr Gerontol 1996; 31: 145-52.
9. Barja G. "Los radicales libres mitocondriales como factores principales determinantes de la velocidad del envejecimiento". Rev Esp Geriatr Gerontol 1996; 31: 153-61.
10. Viña J, Sastre J, Antón V, Asensi M. "Efecto del envejecimiento sobre el metabolismo y las funciones del glutatión (GSH)". En: Crystal RG, Ramón JR, eds. GSHSystem. Glutatión: Eje de la defensa antioxidante. Amsterdam. Excerpta Medica. 1992: 65-78.
11. Ramón Giménez JR. "Radicales Libres y Antioxidantes en Clínica Humana". Ed. IDEPSA. Madrid. 1993.

12. Barja G, Herrero A. "Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum life span in the heart and brain of mammals". *FASEB J* 2000; 14: 312-8.
13. Miquel J, Fleming JEE. "Theoretical and experimental support for an "oxygen radical- mitochondrial injury" hypothesis of cell aging" En: Johnson, J.E., Jr; Harman, D.; Walford, R. y Miquel, J. eds: *Free Radical, aging and degenerative disease*. Alan R. Liss. New York. 1986; 51-74.
14. Hernández Torres A. "Niveles urinarios de los productos de peroxidación lipídica: Acción antioxidante en el organismo humano del tratamiento crenoterápico con aguas sulfuradas y peloides". Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 1997.
15. Hernández Torres A, Ramón Giménez J.R, Cuenca Giralde E, Márquez Montes J. "Acción anti- envejecedora del tratamiento balneoterápico con aguas sulfuradas y peloides". *Rev. Termas Asoc. Gallega de la Propiedad Balnearia*. 1998; (5):16-18.
16. Hernández Torres A. "Efecto antioxidante de la crenoterapia con aguas mineromedicinales". *Medicina Anti- envejecimiento* 2003; 1: 55-56.
17. Hernández Torres A, Cuenca Giralde E, Ramón JR, Casado A. "Influencia de la crenoterapia con aguas bicarbonatadas sulfatadas en el estrés oxidativo de una población balnearia". *Termatalia*, 2003. Orense. Oct-2003.
18. Armijo Valenzuela M, San Martín Bacaicoa J. "Curas Balnearias y Climáticas". Ed. Complutense. 1994: 180.
19. San Martín Bacaicoa J, San José Arango MC. "Paso a través de la piel de los factores mineralizantes de las aguas utilizadas en balneación". *Bol Soc Esp Hidrol Méd*. 1989; 4 (1): 27-32.
20. Armijo Castro F, Ramos M, Vázquez F, San Martín Bacaicoa J. "Estudio del coeficiente de permeabilidad de las membranas". *Bol Soc Esp Hidrol Méd*. (Madrid) 1990; 5 (1): 41-42.
21. Uchiyama M, Mihara M. Determinación of Malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analyt Biochem*. 1978; 86: 271-278.
22. Kosugi H, Enomoto H, Ishizuca Y, Kikugawa K. "Variations in the level of urinary thiobarbituric acid reactant in healthy humans under different physiological conditions". *Biol. Pharm. Bull*. 1994; 17: 1645-1650.
23. Agarwal S, Wee JJ, Hadley M, Draperr HH. Identification of a deoxyguanosine-malondialdehyde adduct in rat and human urine. *Lipid* 1994; 29(5): 429-432.
24. De la Fuente M. Effects of antioxidants on immune system ageing. *Eur J Clin Nutr*. 2002; 56(S3): 55-58.
25. Mahmoodi H, Hadley M, Chang YX, Draperr HH. Increased formation and degradation of malondialdehyde modified proteins under conditions of peroxidative stress. *Lipids* 1995; 30(10): 963-966.
26. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Cuenca Giralde E, Casado Moragón A, López Fernández E, Guillén J, Chamorro JC, Caballero C. "Disminución de los productos de lipoperoxidación producida por las aguas bicarbonatadas-sulfatadas. Efecto beneficioso sobre el organismo". XXIV Congreso Nacional de la SEGG. Murcia. Junio-2002.
27. Hernández-Torres A, Cuenca Giralde E., Ramón JR, Casado A, López-Fdez. E. "Urinary elimination of lipid peroxidation products depends on the annual biological rhythm". *Biocronology International* (en prensa). New York. USA. 2004
28. Hernández Torres A, Cuenca Giralde E, Ramón JR, Casado A, López Fdez. E. "Different blood pressure responses depending on the water composition and way of administration used in the crenotherapeutic treatments, in a population over 65 years of age". Vth European Congress of Gerontology. VLth Congreso de la SEGG y 12th Congreso de la Sociedad catalanobalear de GG Barcelona. Julio-2003.
29. Hernández Torres A., Cuenca Giralde E., Ramón JR., Casadón A, López Fdez. E. "Duración mínima del tratamiento balneario con aguas bicarbonatadas sulfatadas para conseguir un efecto antioxidante en personas mayores de 65 años" *Rev. Esp. Geriatr Gerontol*. 2004; 39 (3): 166-173.
30. Hernández Torres A, Cuenca Giralde E, Ramón JR, Casado A , López Fdez. E, "Minimum duration of spa treatment with bicarbonated-sulfated waters to obtain an antioxidant effect in people over 65". Vth European Congress of Gerontology. VLth Congreso de la SEGG y 12th Congreso de la Sociedad catalanobalear de GG. Barcelona. Julio-2003.
31. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Cuenca Giralde E, Casado Moragón A, López Fernández E, Caballero C, Guillén J, Chamorro JC. "Influencia de la edad y la crenoterapia sobre el estado oxidativo humano". XXIV Congreso Nacional de la SEGG. Murcia, Junio 2002.
32. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Martell Claros N, Cuenca Giralde E, Márquez Montes J. "Acción antioxidante en el organismo humano del

tratamiento crenoterápico con aguas sulfuradas. Relación con la edad". *Rev. Esp. Geriatr Gerontol* 1999; 34(4): 215-223.

33. Hernández Torres A, Ramón Giménez J.R, Martell Claros N, Cuenca Giralde E, Márquez Montes J. "Cambios en la peroxidación lipídica humana y en la tensión arterial en una población hipertensa y normotensa tratada crenoterápicamente con aguas sulfuradas y peloides". *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2002; 37: 147-155.

34. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Martell Claros N, Cuenca Giralde E, Márquez Montes J. "Human lipid peroxidation and blood pressure changes in normotensive and hipertensive patients crenotherapy-treated with sulphured mineral water and peloids". 17th Congress of the International Association of Gerontology". Vancouver (Canadá) 1-6/7/2001.

35. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Cuenca Giralde E, Casado Moragón A, López Fernán-

dez E, Guillén J, Chamorro JC, Caballero C. "Influencia de diferentes aguas minero-medicinales ricas en azufre sobre la tensión arterial". Síntesis. Primeras Jornadas sobre nuevas perspectivas en el cuidado de la Salud. Granada. Noviembre 2002.

36. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Martell Claros N, Cuenca Giralde E, Márquez Montes J. "Acción antioxidante en el organismo humano del tratamiento crenoterápico con aguas sulfuradas y peloides, en relación con la vías de administración utilizadas". *Bol Soc. Esp. Hidrol. Méd.*1998; 13, (1): 27-39.

37. Hernández Torres A, Ramón Giménez JR, Martell Claros N, Cuenca Giralde E, Márquez Montes J. "The antioxidant action of crenotherapy treatment by sulphured mineral waters and peloids on human beings: Its relationship with the administration approach and solar radiations". 33 rd. World Congress of the ISMHC. Karlovy Vary. República Checa. Octubre-1998.