

En: Agua para la Salud. pasado, presente y futuro. Vaquero y Toxqui, eds. CSIC. 2012. ISBN: 978-84-00-09572-7.pp: 33-45.

CAPÍTULO 3

Propiedades y funciones biológicas del agua

ÁNGELES CARBAJAL AZCONA Y MARÍA GONZÁLEZ FERNÁNDEZ

Departamento de Nutrición, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

*«Sin oro podemos vivir, sin agua no»
(dicho popular)*

Resumen

El agua es una sustancia de capital importancia para la vida con excepcionales propiedades consecuencia de su composición y estructura. Es una molécula sencilla formada por tres pequeños átomos, uno de oxígeno y dos de hidrógeno, con enlaces polares que permiten establecer puentes de hidrógeno entre moléculas adyacentes. Este enlace tiene una gran importancia porque confiere al agua propiedades que se corresponden con mayor masa molecular. De ahí sus elevados puntos de fusión y ebullición, imprescindibles para que el agua se encuentre en estado líquido a la temperatura de la Tierra. Su alto calor específico la convierte en un excepcional amortiguador y regulador de los cambios térmicos, manteniendo la temperatura corporal constante. El alto valor del calor de vaporización permite eliminar, por medio del sudor, grandes cantidades de calor preservándonos de los «golpes de calor». Otra propiedad que hace que esta molécula sea única es su amplia capacidad como disolvente de sustancias polares. Teniendo en cuenta que somos mayoritariamente

agua, la casi totalidad de las reacciones químicas producidas en nuestro interior se realizan en medio acuoso. El transporte de nutrientes y metabolitos y la excreción de sustancias de desecho también se realiza a través del agua.



Figura 1. El agua en la vida cotidiana

Introducción

El agua, un compuesto extraordinariamente simple, es sin embargo una sustancia de características tan excepcionales y únicas que sin ella sería imposible la vida. El hombre tiene necesidad de agua para realizar sus funciones vitales, para preparar y cocinar los alimentos, para la higiene y los usos domésticos, para regar los campos, para la industria, para las centrales de energía: en una palabra, para vivir (Figura 1).

El agua es en el hombre, el líquido en el que se produce el proceso de la vida y, de hecho, la supervivencia de las célu-

las depende de su capacidad para mantener el volumen celular y la homeostasia. Es fundamental para prácticamente todas las funciones del organismo y es también su componente más abundante (1). Sin embargo, aunque dependemos de ella, nuestro organismo no es capaz de sintetizarla en cantidades suficientes ni de almacenarla, por lo que debe ingerirse regularmente. Por ello, el agua es un verdadero nutriente que debe formar parte de la dieta en cantidades mucho mayores que las de cualquier otro nutriente. Existen organismos capaces de vivir sin luz, incluso sin oxígeno, pero ninguno puede vivir sin agua. Tal y como escribió Hildreth Brian (2) «*Un hombre puede vivir días sin comer, pero sólo unos 2-5 días sin agua*». Podemos perder casi toda la grasa y casi la mitad de la proteína de nuestro cuerpo y seguimos vivos, pero la pérdida de tan sólo un 1-2% del agua corporal afecta a la termorregulación y a los sistemas cardiovascular y respiratorio y limita notablemente la capacidad física y mental; una hipohidratación mayor puede tener consecuencias fatales (3). Además, tampoco debemos perder de vista que en la naturaleza no se encuentra nunca el agua de los químicos, es decir, el agua pura, inodora, incolora e insípida. El agua de los ríos, el agua subterránea, el agua de lluvia y el agua que bebemos contiene siempre otras sustancias disueltas que, aún en cantidades reducidas, aportan cualidades organolépticas y nutritivas por lo que el agua también debe considerarse un alimento, un componente más de nuestra dieta, un ingrediente fundamental en la cocina, contribuyendo al aporte de algunos nutrientes y mejorando también el valor gastronómico de las recetas culinarias (4).

Conocida la dependencia que los seres vivos tienen del agua y la impronta que ha tenido en la Historia de la Humanidad, cabe preguntarse qué es lo que hace de ella una sustancia tan especial y tan diferente de otras. El «secreto» de

sus excepcionales características está precisamente en su composición y estructura, que le confieren el mayor número de propiedades físicas y químicas «anómalas» entre las sustancias comunes, y esta «personalidad» es la responsable de su esencialidad en la homeostasis, estructura y función de las células y tejidos del organismo. Cuando se compara con moléculas de similar peso molecular y composición, el agua tiene propiedades físicas únicas, consecuencia de su naturaleza polar y de su capacidad para formar enlaces por puente de hidrógeno con otras moléculas (5).

Fueron Lavoisier (1743-1794) y Cavendish (1731-1810) quienes demostraron que el agua estaba formada por hidrógeno y oxígeno. Años más tarde (1913) el bioquímico y fisiólogo Henderson (1878-1942), en su libro «*The Fitness of the Environment*», explicó por primera vez cómo sus peculiares propiedades hacían del agua un constituyente esencial de todas las formas de vida conocidas: «*Thus water, because of its remarkable heat capacity, heat conductivity, its expansion on cooling near the freezing point, its reduced density as ice, its heat of fusion, heat of vaporization, its vapor tension and freezing point, its unique solvent properties, its dielectric constant and ionizing power, and its surface tension, render it in certain respects maximally fit for living beings. Thereby it assures conditions for constancy of temperature, richness of the organism in chemical constituents, variety of chemical processes, electrical phenomena and the functions of colloids*» (6).

Composición y estructura

El agua es una molécula sencilla formada por átomos pequeños, dos de hidrógeno y uno de oxígeno, unidos por

enlaces covalentes muy fuertes que hacen que la molécula sea muy estable. Tiene una distribución irregular de la densidad electrónica, pues el oxígeno, uno de los elementos más electronegativos, atrae hacia sí los electrones de ambos enlaces covalentes, de manera que alrededor del átomo de oxígeno se concentra la mayor densidad electrónica (carga negativa) y cerca de los hidrógenos la menor (carga positiva). La molécula tiene una geometría angular (los dos átomos de hidrógeno forman un ángulo de unos 105°) (Figura 2a) lo que hace de ella una molécula polar que puede unirse a otras muchas sustancias polares (4).

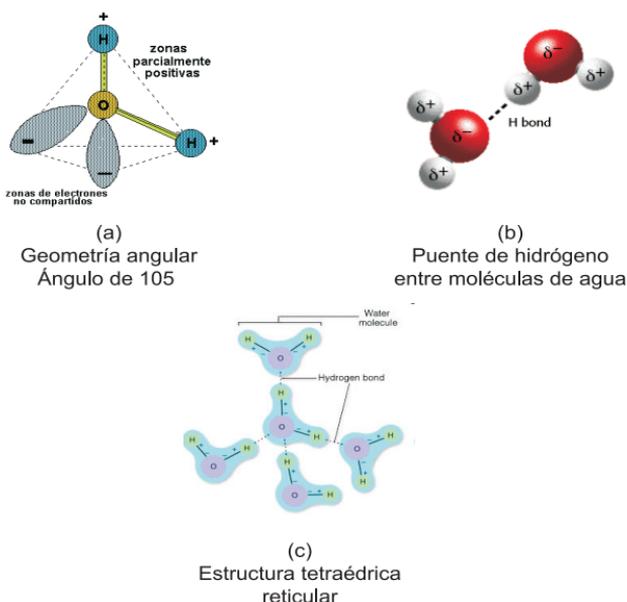


Figura 2. Agua. Estructura (7)

La atracción electrostática entre la carga parcial positiva cercana a los átomos de hidrógeno de una molécula de agua y la carga parcial negativa cercana al oxígeno de otra, permite la unión de moléculas de agua vecinas mediante un

enlace químico muy especial y de excepcional importancia para la vida y que explica el amplio abanico de sus propiedades físicas y químicas: el puente de hidrógeno (Figura 2b). El enlace sólo requiere que el átomo electronegativo (el oxígeno en el caso del agua) que atrae al hidrógeno sea pequeño, posea un par de electrones no enlazantes y una geometría que permita que el hidrógeno haga de puente entre los dos átomos electronegativos (7). Cada molécula de agua puede potencialmente formar 4 puentes de hidrógeno con otras tantas moléculas de agua dando lugar a una estructura tetraédrica reticular relativamente ordenada, responsable de sus peculiares propiedades físico-químicas (8) (Figura 2c). Esta atracción es fuerte porque las moléculas de agua, siendo pequeñas, pueden acercarse mucho más que moléculas mayores y quedan firmemente atraídas por su gran polaridad. La energía de un puente de hidrógeno agua-agua es de unas 5,5 kcal/mol; además, hay que tener en cuenta las interacciones de Van Der Waals entre moléculas próximas. Por consiguiente es difícil que se separen y así se evita que escapen como vapor. Esto hace que el agua posea una gran cohesividad intermolecular, condicionando su alto punto ebullición, de fusión y elevado calor específico. Romper estos puentes, que en una masa de agua son muchos, requiere mucha energía y por ello el agua tiene un punto de ebullición tan alto. Esta es la razón por la que el agua es líquida en el amplio rango de temperaturas en las que se producen las reacciones de la vida y no un gas como le correspondería por su bajo peso molecular (9). El punto de ebullición de un compuesto es función de su masa molecular. Según esto y atendiendo a la secuencia de la Figura 3, el agua tendría un punto de ebullición de unos -100°C (173K) (línea roja punteada) y, por tanto, no encontraríamos agua líquida en la naturaleza, sólo en estado gaseoso. Sin embargo, la tempera-

tura de ebullición del H_2O es de $+100^\circ\text{C}$ (373K). La explicación de este valor aparentemente «anómalo» reside en el hecho de que las moléculas de agua, gracias a los puentes de hidrógeno, se atraen tan fuertemente que no se comportan como moléculas aisladas sino como moléculas mucho más grandes, de manera que tienen una «masa molecular aparente» más alta. El carácter transitorio de los puentes de hidrógeno, que se están formando y rompiendo continuamente, permite la movilidad de las moléculas, contribuyendo a que el agua sea líquida a temperatura ambiente (10). Los puentes de hidrógeno son esenciales para la vida pues no sólo confieren una resistencia estructural al agua sino también a otras muchas moléculas. Por ejemplo, juegan un papel crucial en la estructura del ADN, uniendo las bases nitrogenadas y, en las proteínas, permiten los cambios reversibles que hacen posible sus funciones (8).

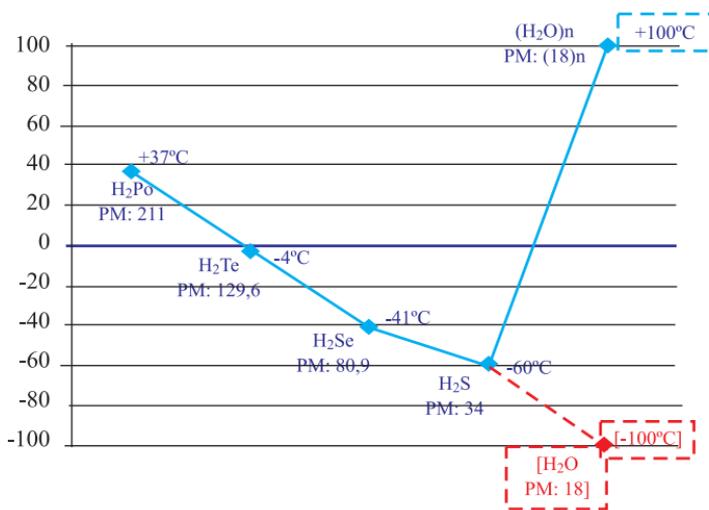


Figura 3. Temperatura de ebullición ($^\circ\text{C}$) y peso molecular (PM) de los hidruros del grupo 6A

Características físicas y químicas. Funciones biológicas

Esta singular composición y estructura confiere al agua unas características físicas y químicas de gran trascendencia en sus funciones biológicas, sobre todo en las relacionadas con su capacidad solvente, de transporte, estructural y termorreguladora. Recordemos que las funciones de los sistemas biológicos pueden explicarse siempre en términos de procesos físicos y químicos.

El comportamiento térmico del agua es único y gracias a ello el agua es el principal responsable del sistema termorregulador del organismo, manteniendo la temperatura corporal constante, independientemente del entorno y de la actividad metabólica. Esta es una de sus funciones más importantes. Tiene una alta conductividad térmica que permite la distribución rápida y regular del calor corporal, evitando gradientes de temperatura entre las diferentes zonas del organismo y favoreciendo la transferencia de calor a la piel para ser evaporada. Su alto calor específico [$1 \text{ kcal/kg } ^\circ\text{C} = 4180 \text{ J/kg}\cdot\text{K}$], consecuencia de la gran capacidad para almacenar energía en los puentes de hidrógeno, la convierte en un excepcional amortiguador y regulador de los cambios térmicos. Aunque acepte o ceda una gran cantidad de calor, su temperatura se modifica muy poco, gracias a su gran capacidad para almacenar calor. El aparato metabólico del hombre para la digestión y procesado de nutrientes y para la contracción muscular es altamente endergónico, liberando grandes cantidades de calor que deben ser disipadas para mantener la homeotermia. Por ejemplo, el efecto termogénico de la digestión de los alimentos es de 10-15% del contenido calórico de una dieta mixta. La contracción muscular es incluso un mayor contribuyente a la carga de calor del organismo, pues la transformación de energía química (ATP) en

energía mecánica es muy poco eficaz, liberando el 70-75% de la energía como calor (11). Así, durante el ejercicio, cuando la necesidad de utilizar energía mecánica aumenta, la producción de calor también es mayor. En estos casos, para prevenir un peligroso aumento de temperatura, el agua absorbe el calor allí donde es generado y lo disipa en los compartimentos líquidos del organismo, minimizando el riesgo de daño localizado por calor a enzimas o estructuras proteicas. De ahí la importancia de la gran cantidad de agua que tiene el cuerpo y también de que esta cantidad no disminuya por debajo de ciertos límites.

Su función termorreguladora está también relacionada con otra de sus características físicas que le confiere su efecto refrigerante: su alto calor de vaporización [a 25°C es de 540 kcal/L], consecuencia de la atracción entre moléculas de agua adyacentes («fortaleza de los puentes de hidrógeno») que dan al agua líquida una gran cohesión interna. El agua, para evaporarse, absorbe más calor que ninguna otra sustancia (7). Por cada litro de sudor o agua respiratoria que el cuerpo vaporiza se disipan unas 540 kcal de calor corporal, consiguiendo un eficaz enfriamiento. Así, ante una carga extra de calor, éste se disipa evaporando cantidades relativamente pequeñas de agua, protegiéndonos de la deshidratación (11). Es importante tener en cuenta que, aunque el sudor es una forma muy eficaz para eliminar calor, puede dar lugar, cuando es prolongado, a una excesiva pérdida de agua que, si no se reemplaza, puede causar graves problemas. De hecho, el organismo necesita equilibrar mediante la ingestión de líquidos las pérdidas para poder seguir manteniendo la capacidad de regular la temperatura corporal. Cuando las pérdidas de sudor exceden peligrosamente a la ingesta, el sistema circulatorio no es capaz de hacer frente a la situación y se reduce el flujo de sangre a la piel. Esto da

lugar a una menor sudoración y, por tanto, a una menor capacidad para perder calor. En estas condiciones se produce un aumento de la temperatura corporal que puede tener consecuencias fatales.

El agua tiene un alto valor de tensión superficial, quedando las moléculas de la superficie fuertemente atraídas, aunque algunas sustancias pueden romper esta atracción. Este es el caso del jabón que forma espuma o de las sales biliares que facilitan la digestión de las grasas. Las gotitas de grasa emulsionadas se organizan después en micelas que aumentan la absorción (crean un mayor gradiente de difusión) y facilitan la entrada de otros nutrientes. En el intestino se observan las gotitas de grasa en forma de emulsión, pero también como micelas, de tamaño mucho mayor que las gotitas emulsionadas y siempre en mayor cantidad, que acercan los lípidos que transportan al enterocito para ser absorbidos. De esta manera, las sales biliares mejoran la digestibilidad y también la absorción de la grasa y de otros nutrientes.

Tiene también unas excepcionales y únicas propiedades solventes. Debido a su pequeño tamaño, a la naturaleza polar de sus enlaces H – O, a su estructura angular y a su capacidad para formar puentes de hidrógeno, el agua es una molécula altamente reactiva que puede disolver una gran variedad de sustancias (hidrófilas) iónicas y moleculares, pero también evita la disolución de otras apolares (hidrófobas), efecto igualmente muy importante para la vida. El cuerpo es esencialmente una solución acuosa en la que gran cantidad de solutos (proteínas, vitaminas, glucosa, urea, sodio, cloro, potasio, O₂, CO₂, etc.) están distribuidos en los diferentes compartimentos.

Gracias a su capacidad disolvente, a su elevada constante dieléctrica y a su bajo grado de ionización ($K_w=10^{-14}$),

el agua es el medio en el que se producen todas las reacciones del metabolismo, participando en muchas de ellas como sustrato o como producto. Un ejemplo son las reacciones de hidrólisis que se producen en la digestión o en la oxidación de los macronutrientes (12). En las disoluciones iónicas, el elevado calor de hidratación (energía que se desprende cuando los iones se rodean de moléculas de agua), proporciona gran estabilidad a la disolución. Además, por su alta constante dieléctrica ($K=80$ a 20°C) las disoluciones iónicas conducen la corriente eléctrica; de ahí su importancia, por ejemplo, en la transmisión nerviosa.

La interacción hidrofóbica es la responsable de diversos procesos biológicos importantes (10). En medios acuosos, la interacción con moléculas anfipáticas (o anfifílicas, aquellas con grupos polares y apolares, como los detergentes o las sales biliares) determina la formación de estructuras ordenadas. Este es el caso de las membranas celulares, formando bicapas lipídicas [las moléculas de carácter anfifílico que forman las membranas celulares son los fosfolípidos -doble capa fosfolipídica-]; de las micelas (importantes en la digestión intestinal de lípidos, mediada por las sales biliares) o de los liposomas. Todos ellos -membranas, micelas y liposomas- son estructuras muy estables mantenidas por las fuerzas hidrofóbicas de las cadenas hidrocarbonadas y las interacciones iónicas de las cabezas cargadas con el agua: el agua «arrincona» a las moléculas no polares, manteniéndolas juntas (7). El efecto hidrofóbico del agua, consecuencia de su gran cohesión, resultó esencial para la formación y posterior evolución de las células (13).

El agua también contribuye a la organización macromolecular («*bounded water*»). El efecto hidrofóbico de muchos de los 20 aminoácidos que forman las proteínas contribuye al plegamiento rápido de las cadenas polipeptídicas

y también a la agregación de las subunidades proteicas para formar la estructura cuaternaria tridimensional que es la forma activa. «*Este prodigioso proceso está dirigido por el agua cuya alta cohesividad empuja a los aminoácidos hidrófobos de cada proteína a reunirse, forzando la compactación de la proteína*» (13). Se estima que la hidratación de las proteínas es de 1,4 a 4 g de agua por gramo de proteína, de manera que, por ejemplo, el 81% del agua de los glóbulos rojos está encapsulada en la hemoglobina. Se ha observado que la mayoría de las células de los mamíferos tienen un rango de hidratación de 58-80% de agua, y la mayor parte de la misma está «secuestrada» por sus componentes macromoleculares (14). De igual manera, la estructura en doble hélice del ADN depende en buena medida del efecto hidrofóbico ejercido por el agua (13). Sin agua para separar las repulsiones electrostáticas entre los grupos fosfato, la doble hélice no existiría (10).

El agua no sólo mantiene la estructura macromolecular, también media en el reconocimiento de moléculas, proporciona canales de comunicación a través de las membranas y entre el interior y el exterior de las proteínas y aumenta la movilidad o flexibilidad de los enzimas facilitando el ataque enzimático (15, 16). Por ejemplo, cada gramo de glucógeno muscular se almacena con 2,7 g de agua y esto permite que el glucógeno sea fácilmente atacado por enzimas hidrolíticas que liberan rápidamente glucosa, el combustible del músculo en el ejercicio.

Por su elevada cohesión molecular, el agua es imprescindible para mantener el volumen celular, un requisito importante para la vida. Tal y como señala Sancho (13): «*lo más singular es que [el agua] otorga forma a cada proteína, a los ácidos nucleicos y a cada una de nuestras células. Y la forma es la función*». Las células han desarrollado poderosos

mecanismos para estabilizar su volumen que puede cambiar por alteraciones en la osmolaridad, por estrés oxidativo, por entrada de nutrientes, hormonas,.... Estos mecanismos permiten fluctuaciones en la hidratación de la célula que son importantes señales en el metabolismo celular y en la expresión genética. En general, una célula hidratada favorece las rutas anabólicas y protege del daño oxidativo, mientras que una célula hipohidratada dispara vías catabólicas. Por ejemplo, las hormonas son potentes moduladores del volumen celular. En el hígado, la insulina estimula sistemas de transporte de iones reguladores de volumen que conducen a la acumulación intracelular de K^+ , Na^+ y Cl^- y consecuentemente a la entrada de agua y a la hinchazón de la célula y esto es una señal que dispara las rutas anabólicas (síntesis de proteínas y glucógeno). El glucagón tiene el efecto contrario (12).

El agua (aceptando o donando protones) también contribuye en el mantenimiento del pH, esencial para la vida, ya que la actividad de muchos procesos, como por ejemplo la actividad enzimática, es pH dependiente. Mantiene el volumen vascular y permite la circulación de la sangre. Es el medio en el que funcionan todos los sistemas de transporte, permitiendo el intercambio de sustancias. Es el río fisiológico en el que navegan los nutrientes de la vida, transportando también hormonas, metabolitos y otras muchas sustancias necesarias para la célula, así como los productos de desecho a los pulmones, riñones, intestino o piel para ser eliminados. Esta es el agua extracelular. La importancia del agua extracelular la puso de manifiesto el reconocido fisiólogo francés Claude Bernard (1813-1878) quien en 1865, en su obra *Introduction à l'étude de la médecine expérimentale*, acuñó el concepto de «*milieu intérieur*» [el líquido que baña todas las células, de composición muy constante –«*constancia del medio interno, homeostasis*»- y que asegura las condiciones

físicas y químicas estables para el funcionamiento de las células] para referirse a la internalización del «*milieu extérieur*», es decir, a la internalización del mar de la vida, aquél en el que probablemente empezó el proceso de la vida. Ésta emergió en nuestro planeta hace más de tres mil millones de años de un «*caldo nutritivo*» que probablemente contenía concentraciones de sodio y otros electrolitos similares a las de los líquidos extracelulares de los mamíferos. De hecho, la vida de los mamíferos sólo fue posible después de un largo proceso evolutivo que condujo a la internalización de este mar original, a la aparición de las membranas (17). «*El medio interno tiene que ser líquido porque el agua es indispensable para las reacciones químicas, así como para la manifestación de las propiedades de la materia viva...*». «*Entre los animales, unos tienen un medio interno de temperatura variable, que sigue las oscilaciones de la temperatura exterior: los animales de sangre fría. Otros están provistos de un medio interno que posee en general una temperatura más elevada que la del medio externo, pero prácticamente fija e independiente de las variaciones atmosféricas: son los animales de sangre caliente. Esta simple circunstancia de temperatura fija o variable lleva, desde el punto de vista fisiológico, a una diferencia radical entre los seres vivos. Todos aquellos cuyo medio interno mantiene una temperatura variable no poseen ninguna manifestación vital idéntica y constante en su actividad; están sometidos a las vicisitudes climatológicas, ale-targándose durante el invierno y despertándose durante el verano. Los animales de sangre caliente, por el contrario, se muestran inaccesibles a las variaciones de temperatura del medio externo y poseen una vida libre e independiente. Esta libertad no es más que una perfección del medio interno que permite que los organismos superiores se encuentren mejor protegidos contra las variaciones de temperatura. En estos*

animales, los elementos histológicos están encerrados en el organismo como en un invernadero; no sufren las influencias de los fríos exteriores, pero no por ello son independientes. Si funcionan de modo constante y no se aletargan, es porque la temperatura constante y elevada del medio interno mantiene incesantemente las condiciones físicas y químicas indispensables para la actividad vital» (C. Bernard. De la fisiología general, 1872) (17, pp: 82 y 83). Creemos que no se puede expresar mejor la importancia del agua para la vida del hombre.

El agua, junto con sustancias viscosas, actúa como lubricante: la saliva lubrica la boca y facilita la masticación y la deglución, las lágrimas lubrican los ojos y limpian cualquier impureza; el líquido sinovial baña las articulaciones; las secreciones mucosas lubrican el aparato digestivo, el respiratorio, el genito-urinario. Mantiene también la humedad necesaria en oídos, nariz o garganta. Proporciona flexibilidad, turgencia y elasticidad a los tejidos. El líquido del globo ocular, el cefalorraquídeo, el líquido amniótico y en general los líquidos del organismo amortiguan y nos protegen cuando andamos y corremos (15). Y finalmente, también el feto crece en un ambiente excepcionalmente bien hidratado, de manera que, como decía Paracelso (1493-1541), *«el agua es el origen del mundo y de todas sus criaturas»*.

Bibliografía

1. BOSSINGHAM MJ, CARNELL NS, CAMPBELL WW. Water balance, hydration status, and fat-free mass hydration in younger and older adults. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(6):1342-50.
2. BRIAN H. How to Survive in the bush, on the coast, in the mountains of New Zealand. Wellington, Government Printer, 1962.

3. GRANDJEAN AC, REIMERS KJ, BUYCKX ME. Hydration: issues for the 21st century. *Nutr Rev.* 2003; 61(8):261-71
4. CARBAJAL A, GONZÁLEZ M. Funciones biológicas del agua en relación con sus características físicas y químicas. En: «Agua. El arte del buen comer». pp: 249-256. Academia Española de Gastronomía. Barcelona, 2003.
5. PIERCE MM. Water. Structures, properties, and determination. En: *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. pp: 6082-6086. Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ (eds). Academic Press, 1993.
6. CANNON WB. Biographical Memoir of LJ Henderson. 1878-1942. National Academy of Sciences. Vol. XXIII, 1943.
7. MARTÍNEZ R, RODRÍGUEZ J, SÁNCHEZ L. Química, un proyecto de la American Chemical Society, Ed. Reverte, 2007.
8. BRENES R, ROJAS LF. El agua: sus propiedades y su importancia biológica. *Acta Académica*. 2005.
9. ROBINSON J. WATER, electrolytes and acid-base balance. En: *Essentials of Human Nutrition*. Mann J, Truswell S (eds). pp. 113-128. Oxford University Press. 2002.
10. BALL P. Water as an active constituent in cell biology. *Chem Rev.* 2008; 108(1):74-108.
11. ASKEW EW. Water. Cap. 10. pp. 98. En: Ziegler EE, Filer LJ (ed) ILSI, 1996.
12. HÄUSSINGER D. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochem J* 1996; 313:697-710.
13. SANCHO J. Agua es Vida. *Rev Real Academia de las Ciencias* 2007; 62:65-74.
14. FULLERTON GD, Cameron IL. Water Compartments in Cells. *Methods in Enzymology*. 2007; 428:1-28.
15. JÉQUIER E, CONSTANT F. Water as an essential nutrient: the physiological basis of hydration. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64(2):115-123.
16. HALLING PJ. What can we learn by studying enzymes in non-aqueous media? *Phil Trans R Soc Lond B* 2004; 359:1287-1297.
17. MARTÍ O. Claude Bernard y la medicina experimental. Editorial Montesinos, 2007.