

L'acqua e l'ambiente nella prevenzione oncologica

Centro espositivo LARIOFIERE -
ERBA (CO)

14-15 Novembre 2014

Lariofiere – Erba (CO)

**I microorganismi termofili e
le prove di efficacia delle
acque termali.
Il binomio acqua-fango**

FABRIZIO CALDARA



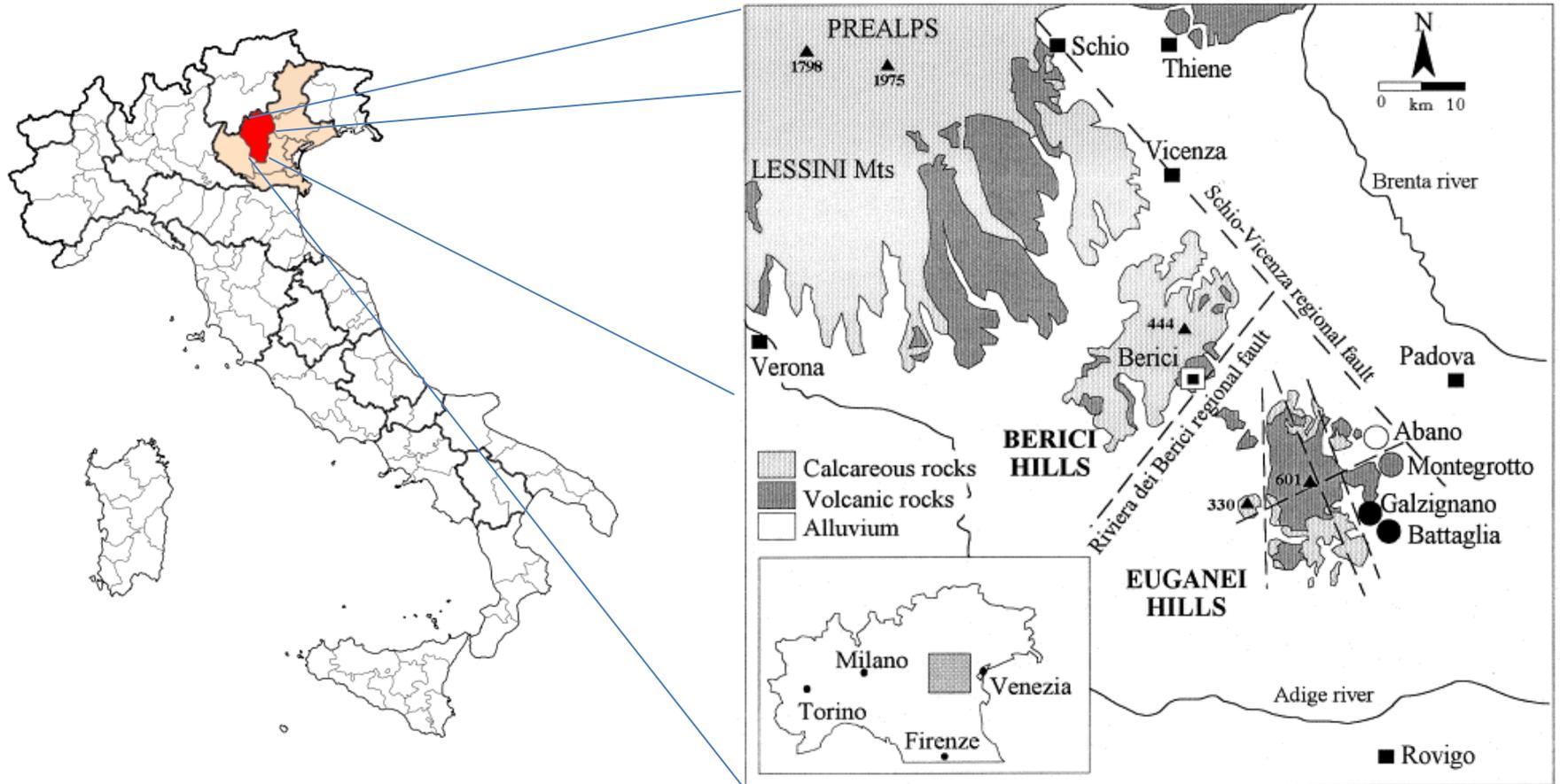
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

**Centro Studi Termali "Pietro d'Abano"
Abano Terme, Padova**



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Bacino Termale Euganeo





CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Il culto delle acque termali





CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Apono (Poesie minori, 26)

«Felici quei coloni che ti hanno avuto in dono, ai quali è diritto avere Apono nella loro terra»

“.....poichè se un malefico umore abbonda nelle membra ed il ventre languido rosseggia per troppo fiele, non tagliano le vene, nè sanano la ferita con una ferita, nè bevono filtri misti di erbe venefiche, ma senza danno recuperano con le acque il perduto vigore e si placa per il sofferente, che ritorna alla salute, la malattia.”

Claudius Claudianus (IV d.C.)



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

La risorsa termale

- Acqua Ipertermale del Bacino Idrominerario Omogeneo dei Colli Euganei (B.I.O.C.E.)
- Argilla Naturale dei Colli Euganei prelevata da due laghi alimentati da sorgenti termali.



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

ACQUA SASSOBIROAZZURRICA

Bacino Geotermico Euganeo-Berico-Lessineo



3000 MT
PROFONDITÀ

MIGLIAIA DI ANNI

BASAMENTO CRISTALLINO



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Acqua ipertermale del B.I.O.C.E.

Bacino Idrominerario Omogeneo dei Colli Euganei



- Veloce risalita verticale
- Temperatura acqua bocca pozzo fino a 87 °C
- Acqua di tipo salso-bromo-iodica (classificazione medica Marotta e Sica 1933)
- 137 concessioni minerarie (72 Abano, 43 Montegrotto, 9 Battaglia, 7 Galzignano, 6 comuni limitrofi). I ca 250 pozzi scendono da 150 a 1100 metri di profondità.

- Principali anioni: cloruri, solfati, bicarbonato (Piccoli et al., 1976)
- Principali cationi: Na, K, Ca, Mg
- Bassi valori di CO₂, CH₄ e O₂, molto alti in N₂ (85-90% volume gas totali)



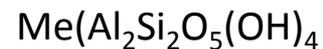
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Argilla azzurra naturale dei Colli Euganei

Prelievo regolamentato dalla Regione Veneto



Silicato di alluminio idrato salificato con cationi mono e bivalenti:



45% Silicio - Si	25.6% Sabbia
22% Calcio - Ca	32.4% Argilla
15% Alluminio - Al	2.0% Limo
10% Magnesio - Mg	



Origine dei sedimenti

Componente antica, rappresentata dai depositi della pianura che si sono messi in posto nel corso della storia geologica dell'area;

Componente attuale, rappresentata dalla sedimentazione che avviene in continuo sul fondo dei laghetti.



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Acqua + Argilla = Fango

- Avviene in vasche di cemento o serbatoi in acciaio
- E' un sistema aperto: scambio continuo con l'ambiente (es. pollini e spore)

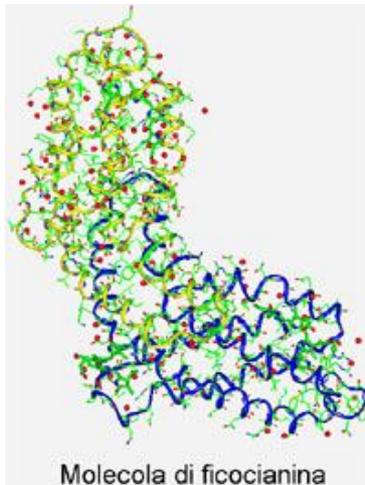




Maturazione del Fango

- Incremento della massa organica in sospensione colloidale
- Modificazione dei parametri fisici: capacità di reidratazione (\uparrow), rapporto peso/volume, termo-conduttività (maggiormente termoisolante), plasticità e viscosità (effetto sull'assorbimento cutaneo)
- Modificazione dei parametri chimici e chimico-fisici: scambio ionico argilla naturale-acqua termale
- Formazione del biofilm

La colorazione verde-azzurra dipende dalla presenza predominante della ficocianina.





Condizioni di Maturazione

- Granulometria idonea della matrice solida argillosa, come è appunto quella assicurata del fango vergine proveniente dal territorio euganeo.
- Ricircolo acqua termale di affioramento.
- Temperatura idonea dell'acqua termale.
- Tempo di contatto acqua/fango (partendo da un fango vergine, circa 60 gg.).
- Adeguata presenza d'irraggiamento solare per favorire lo sviluppo della **componente organica**.



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Fango Maturo





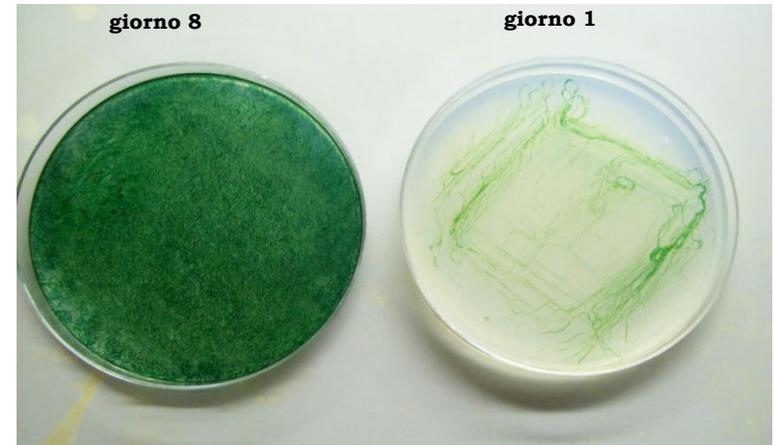
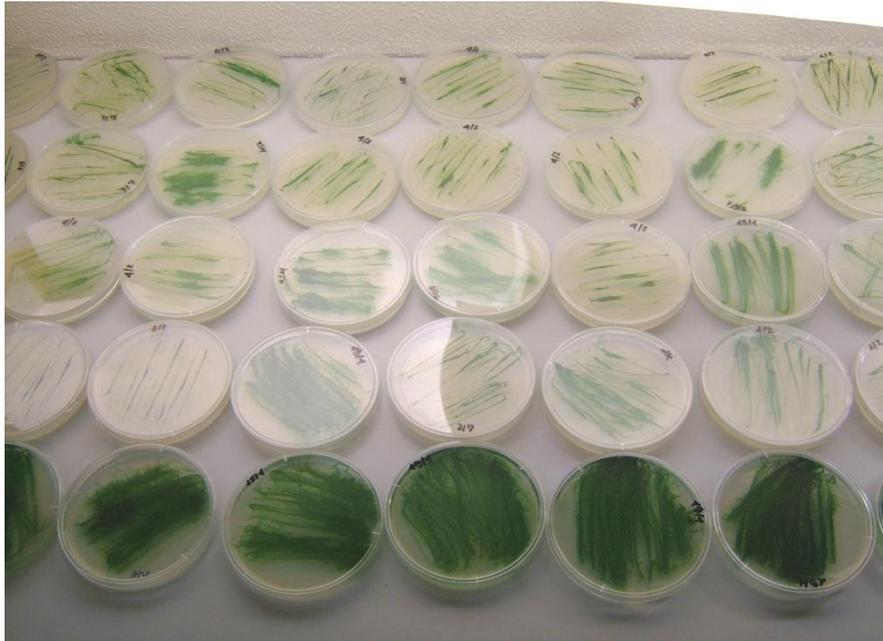
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Isolamento e identificazione della componente biologica



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

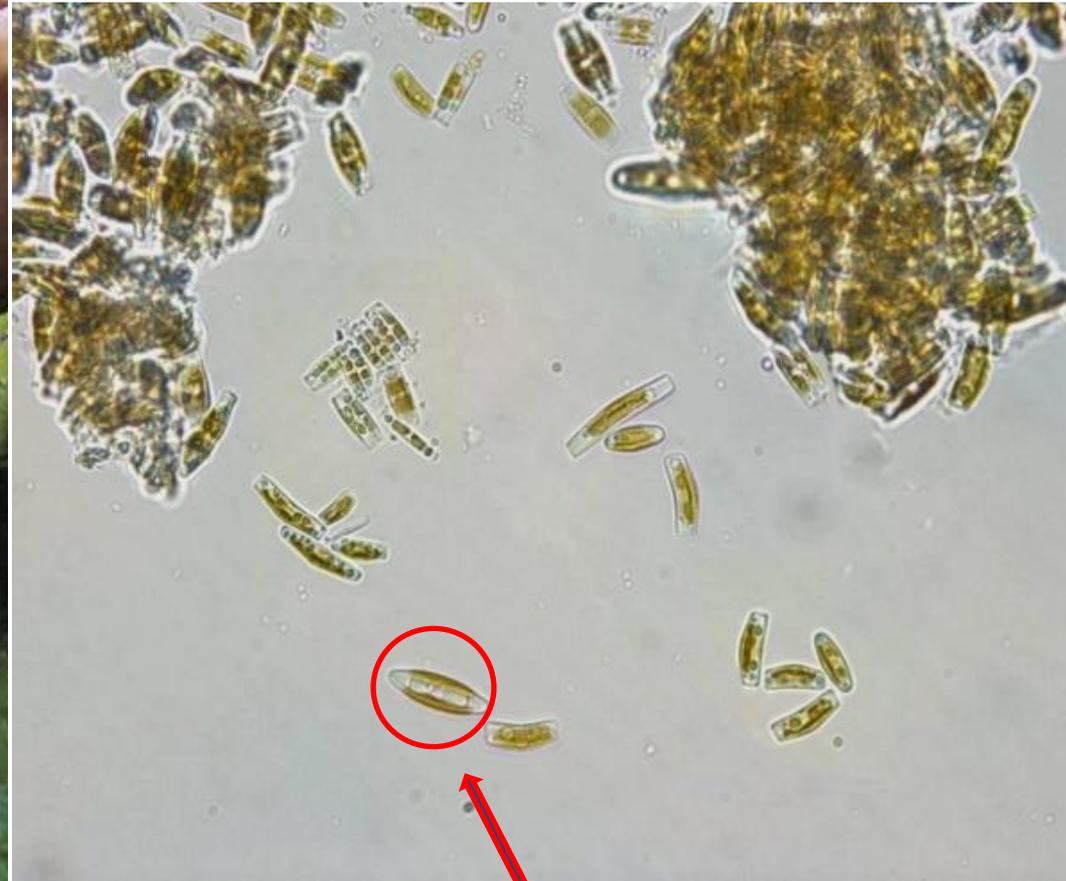
Isolamento della componente biologica





CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

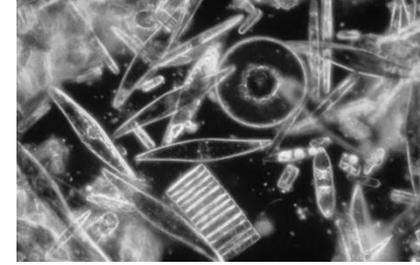
IDENTIFICAZIONE



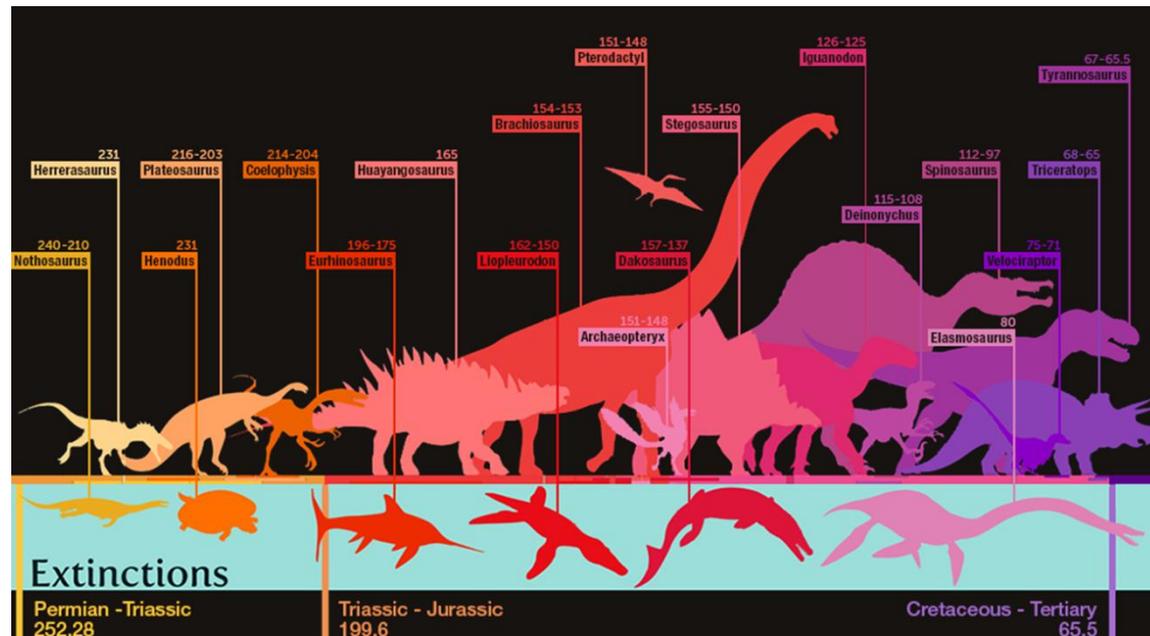
Navicula veneta



LE DIATOMEE



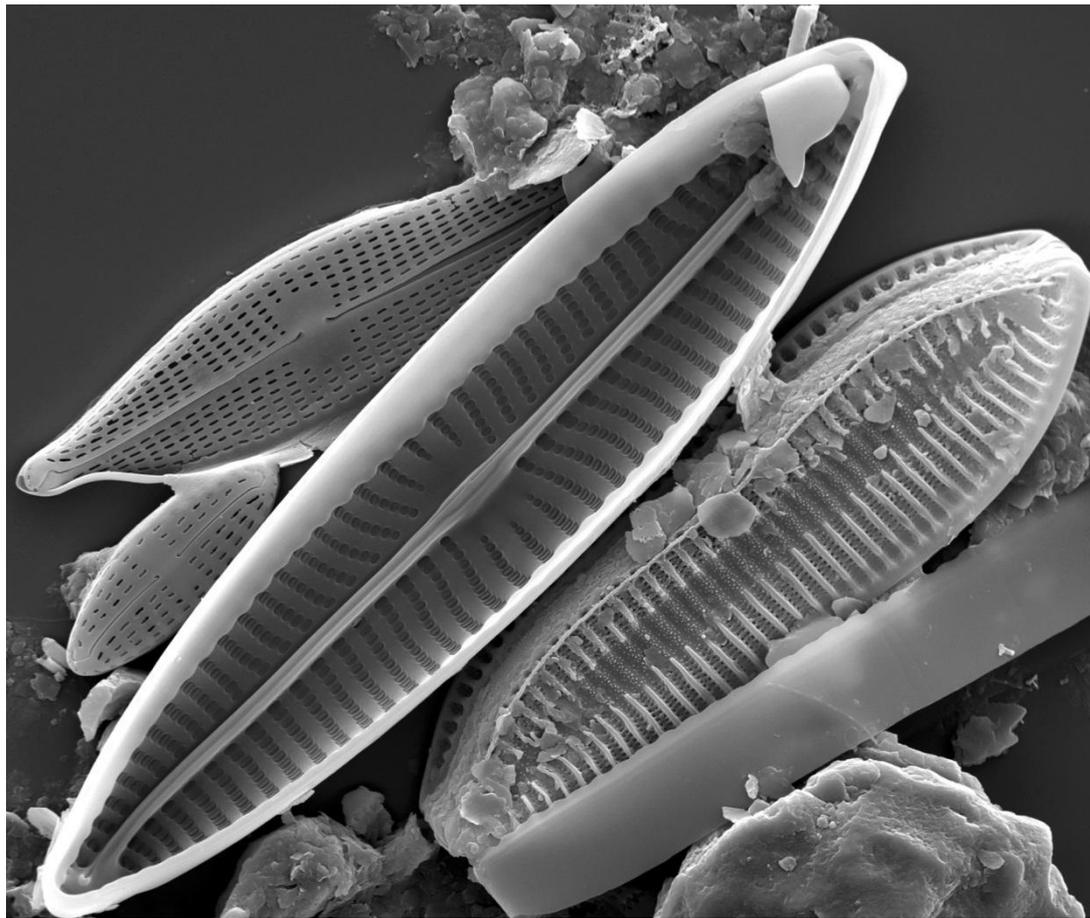
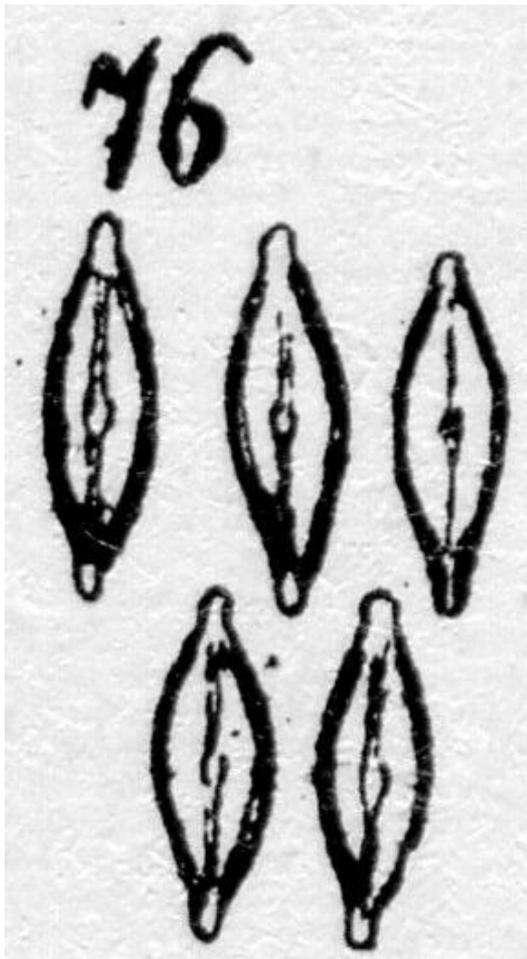
- Alghe unicellulari non flagellate comparse 145 milioni di anni fa:



- Organismi eucariotici autotrofi
- Frustoli silicei a due valve
- Cellule libere o riunite in colonie



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO



45. NAVICULA VENETA. Taf. 30. Fig. 76.
($\frac{42}{1}^{\circ}$). *N. minutula*, lanceolata, latiuscula, laevissima, apicibus productis obtusiusculis. Long. $\frac{1}{115}'''$.

In halbsalzigen Wassergräben des botanischen Gartens zu Venedig!



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Aulacoseira Granulata

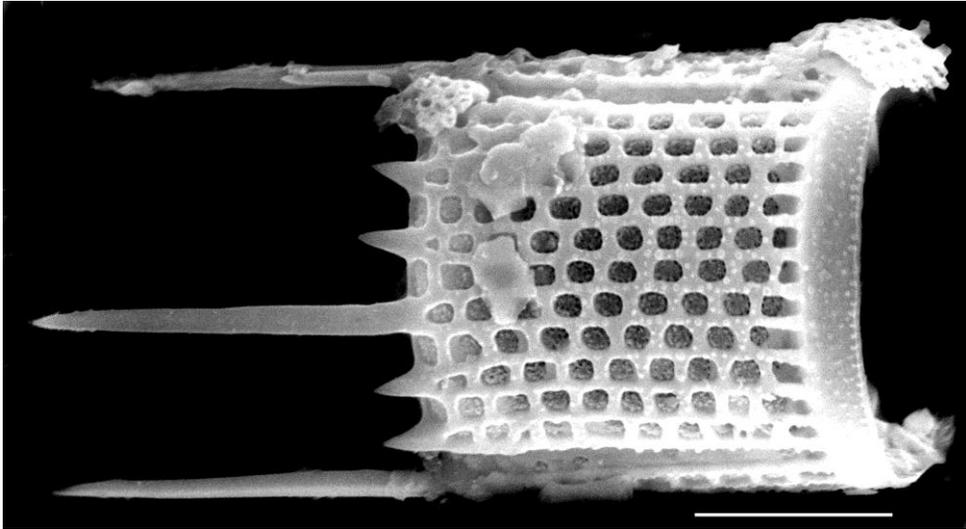
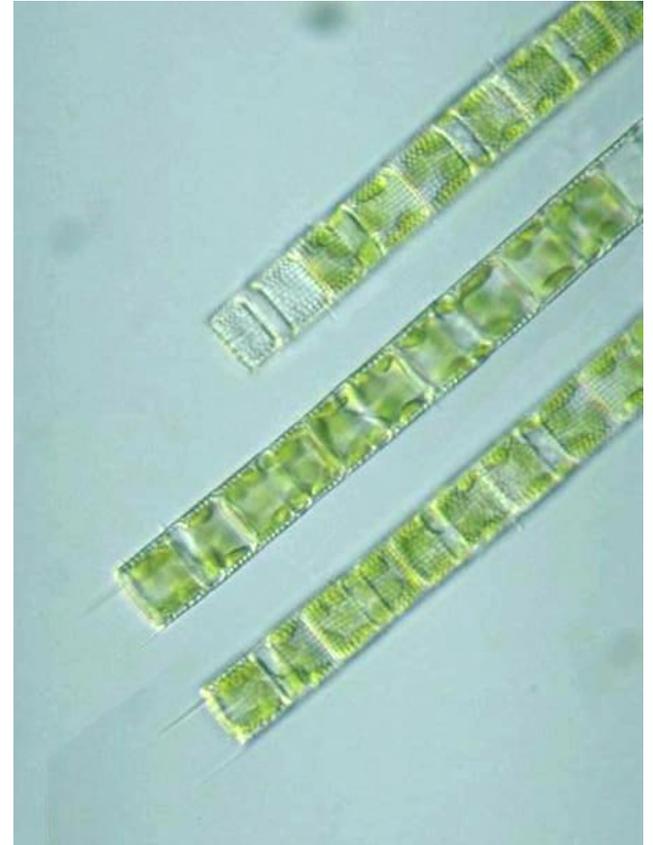
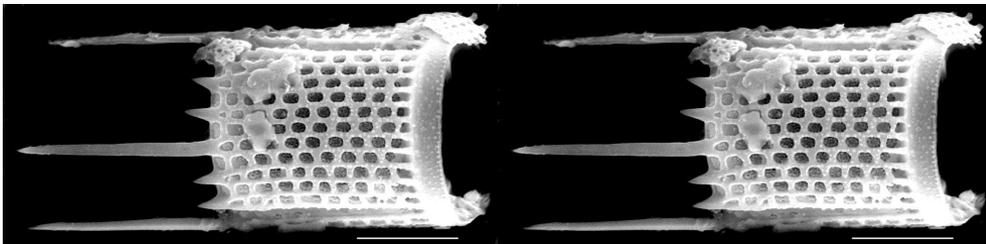


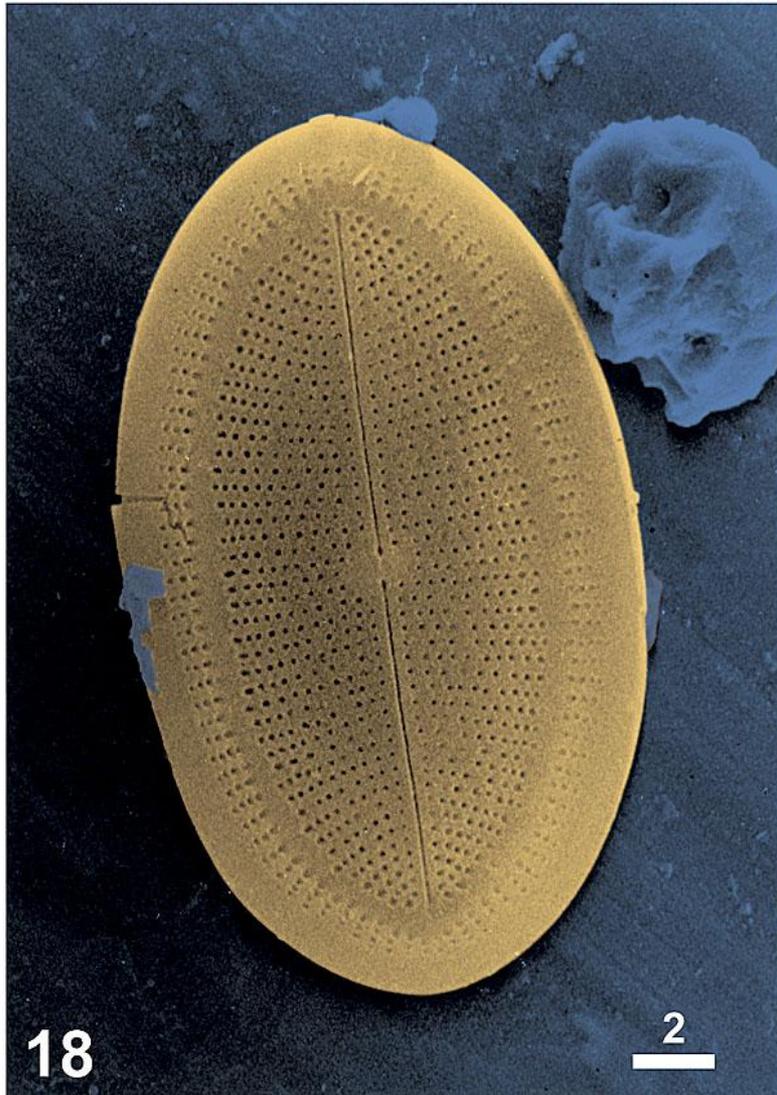
Image Credit: Marina Potapova



Protist Information Server



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO



Cocconeis placentula

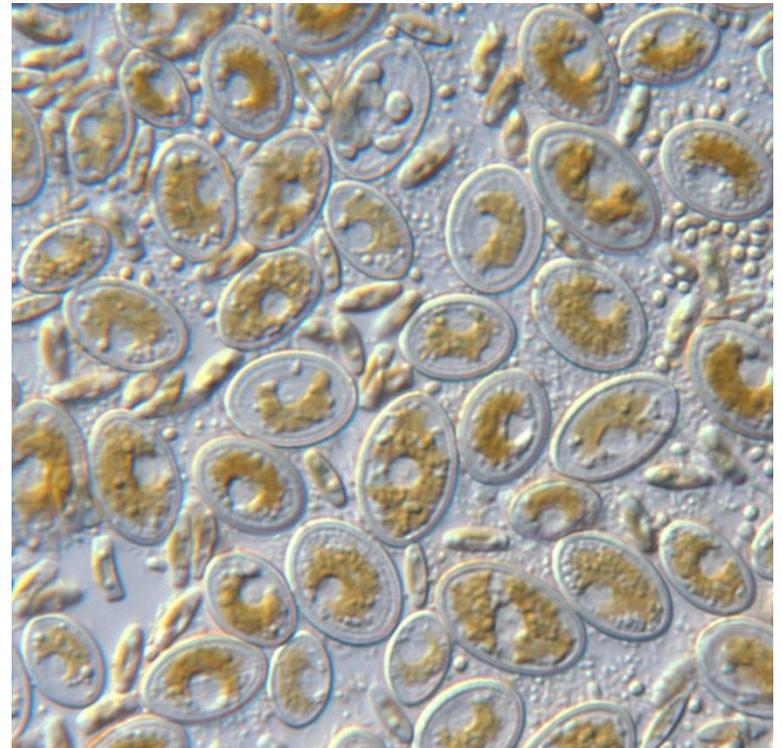
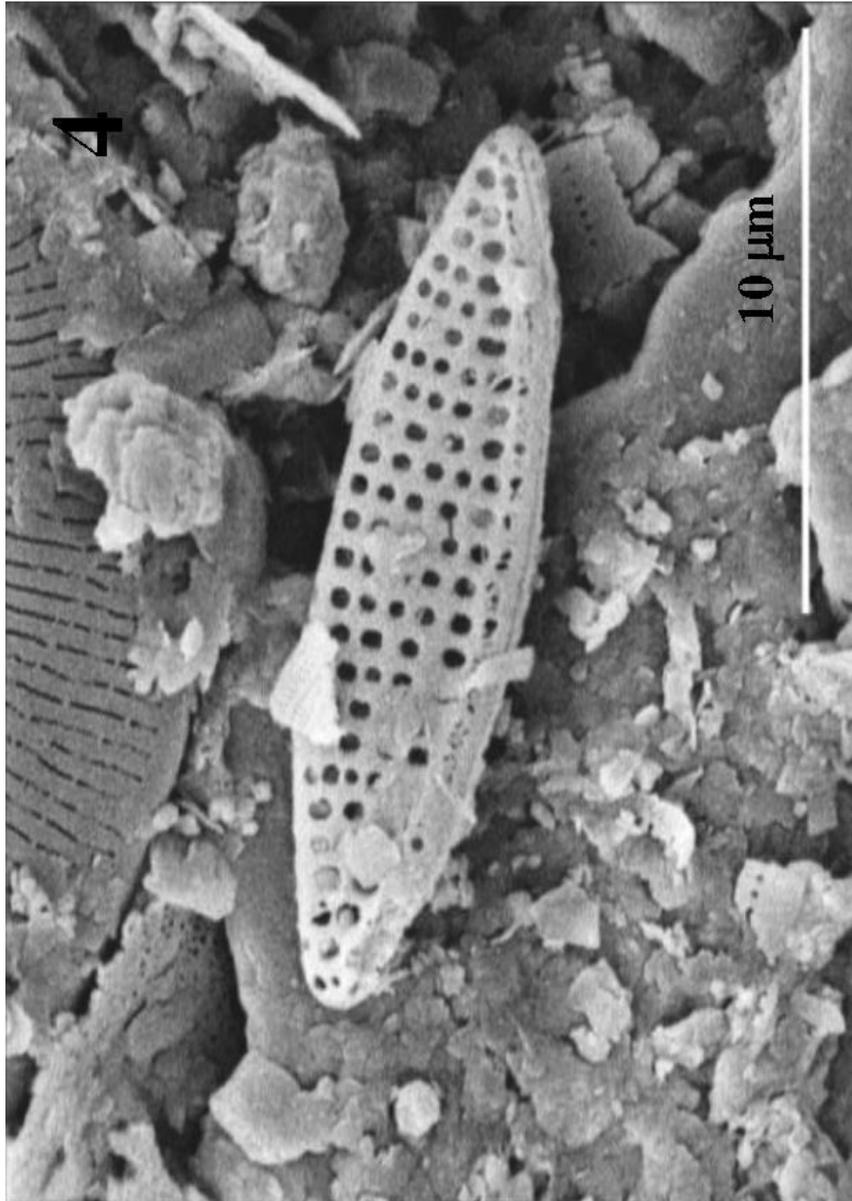


Image credit: Marina Potapova | Sarah Spaulding



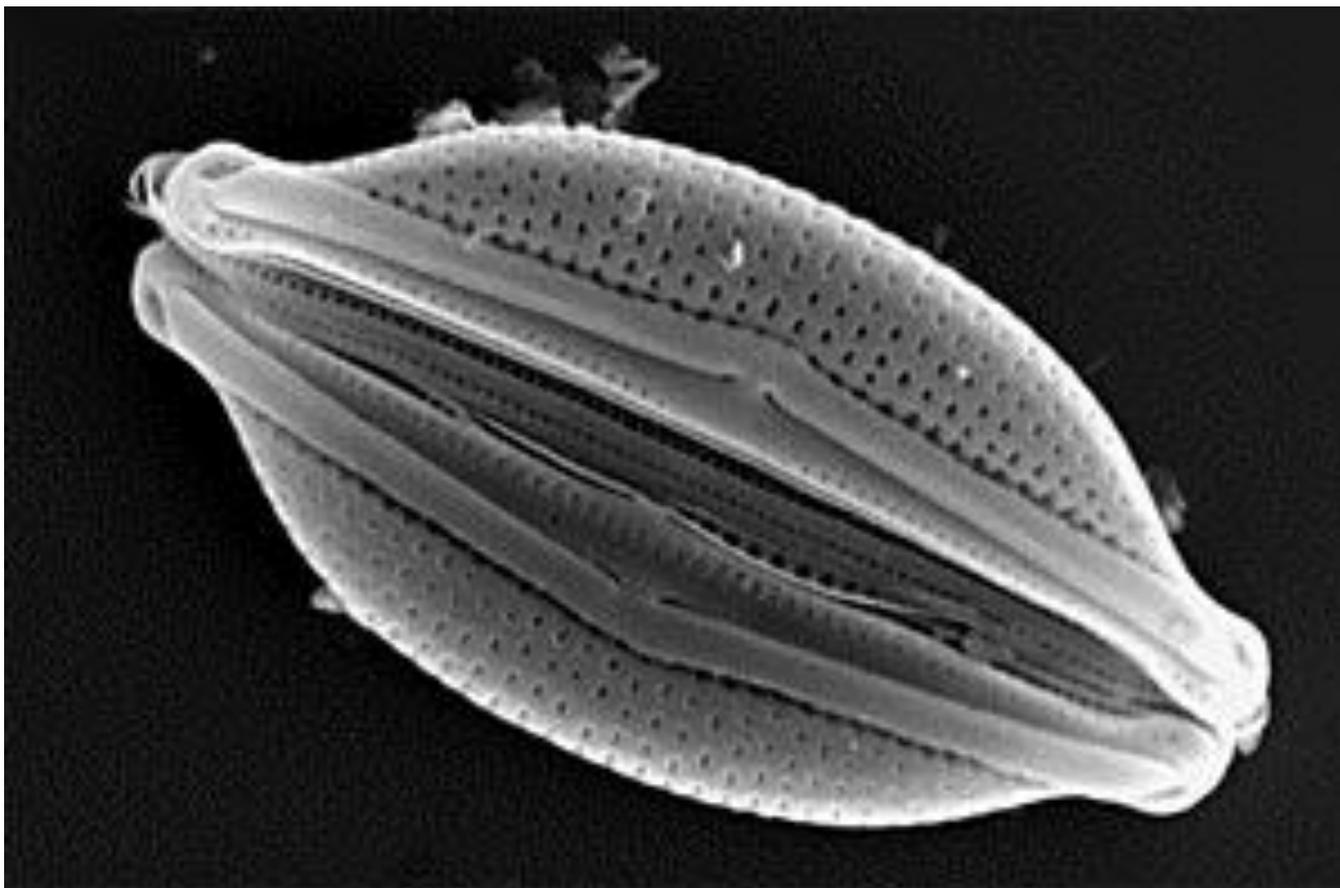
Denticula thermalis

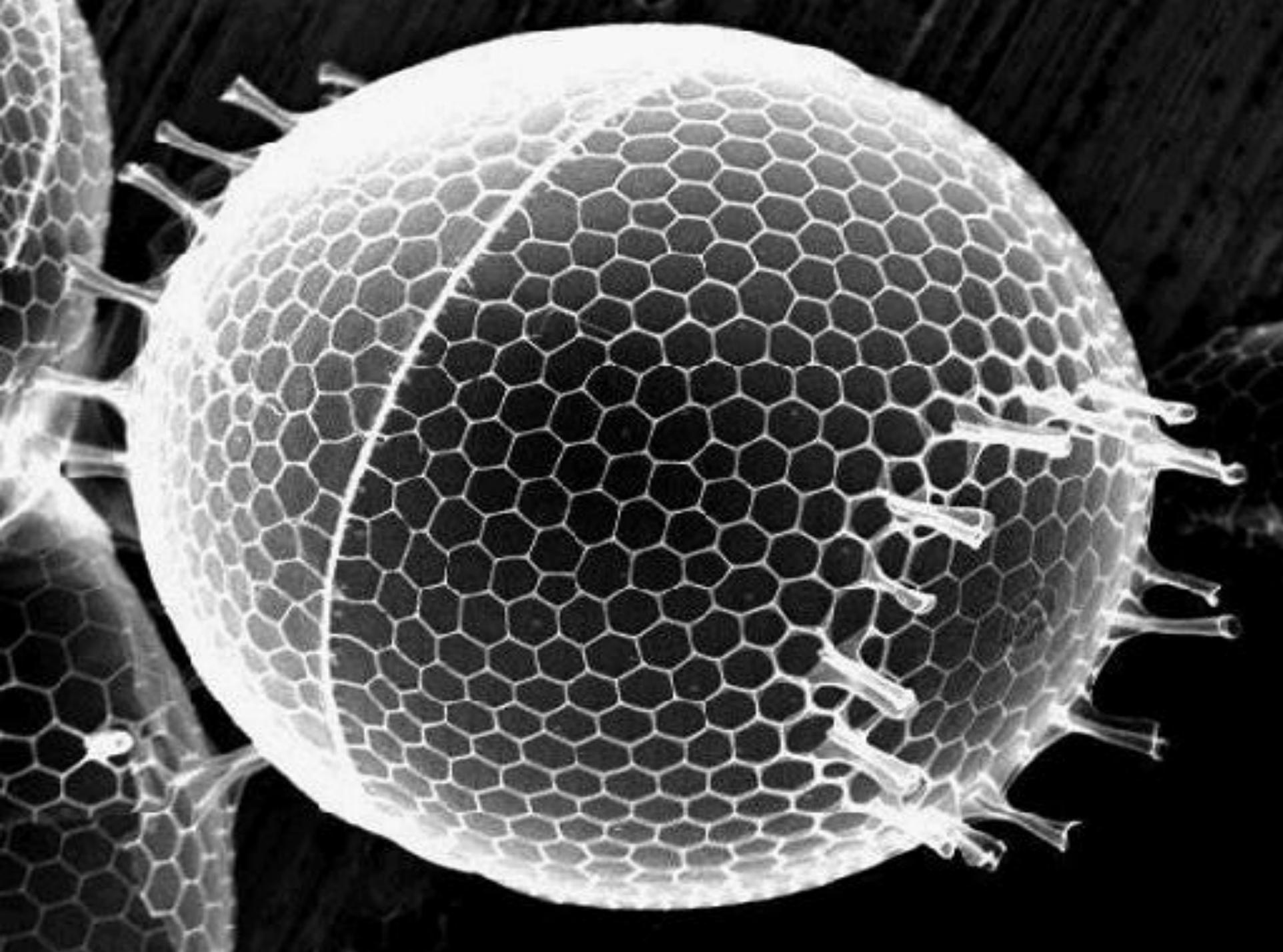




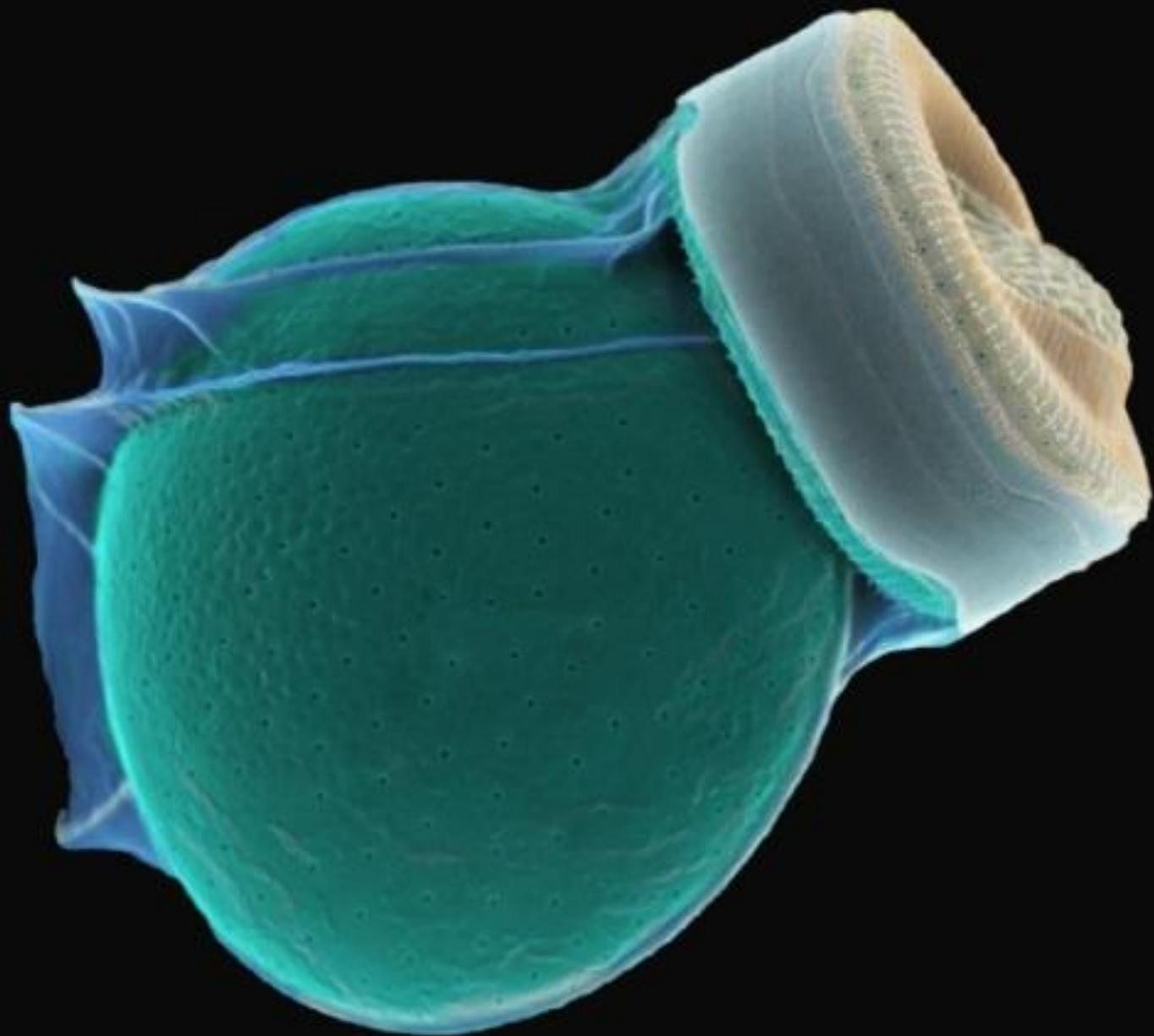
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

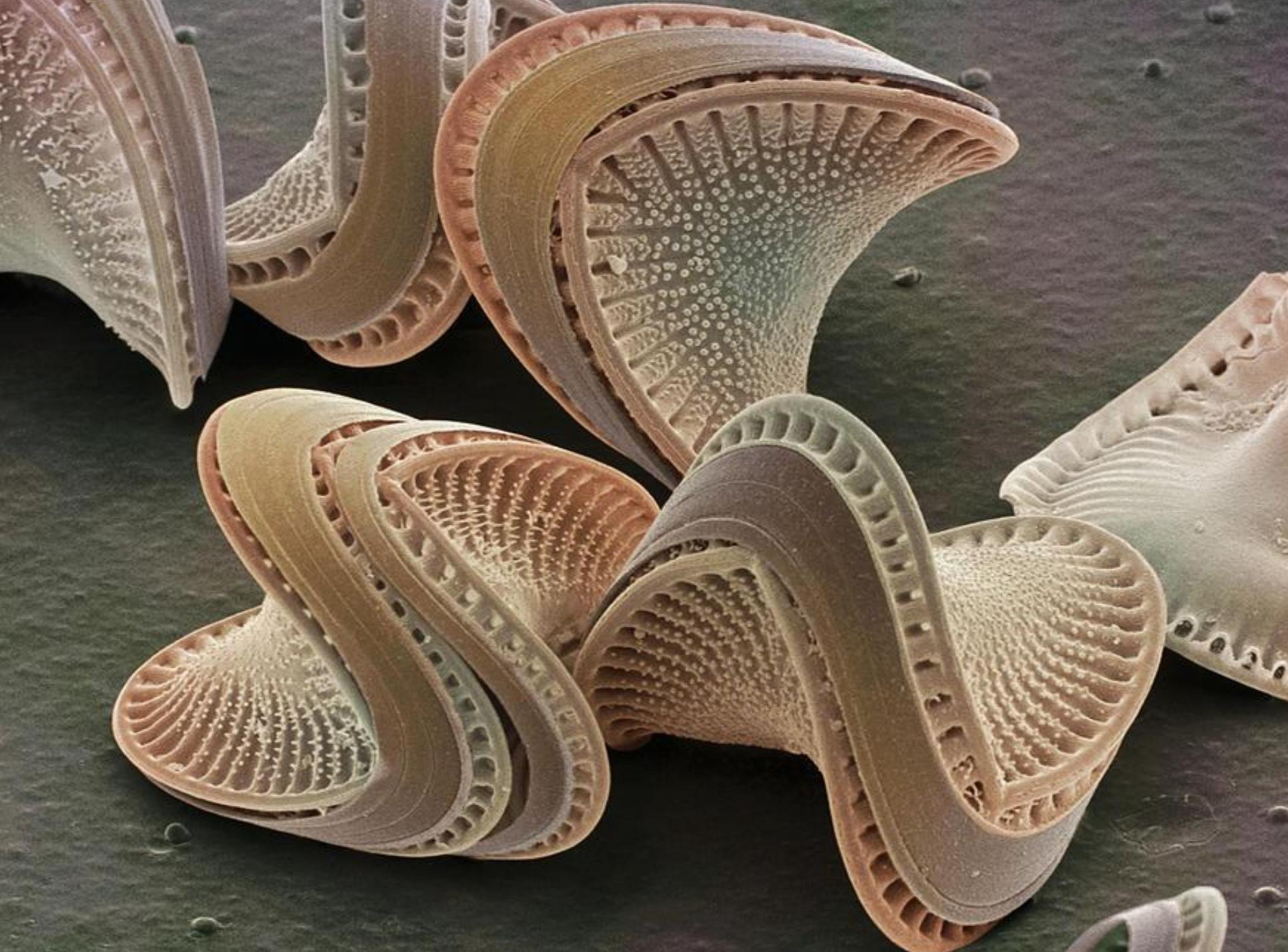
Amphora aponina













CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

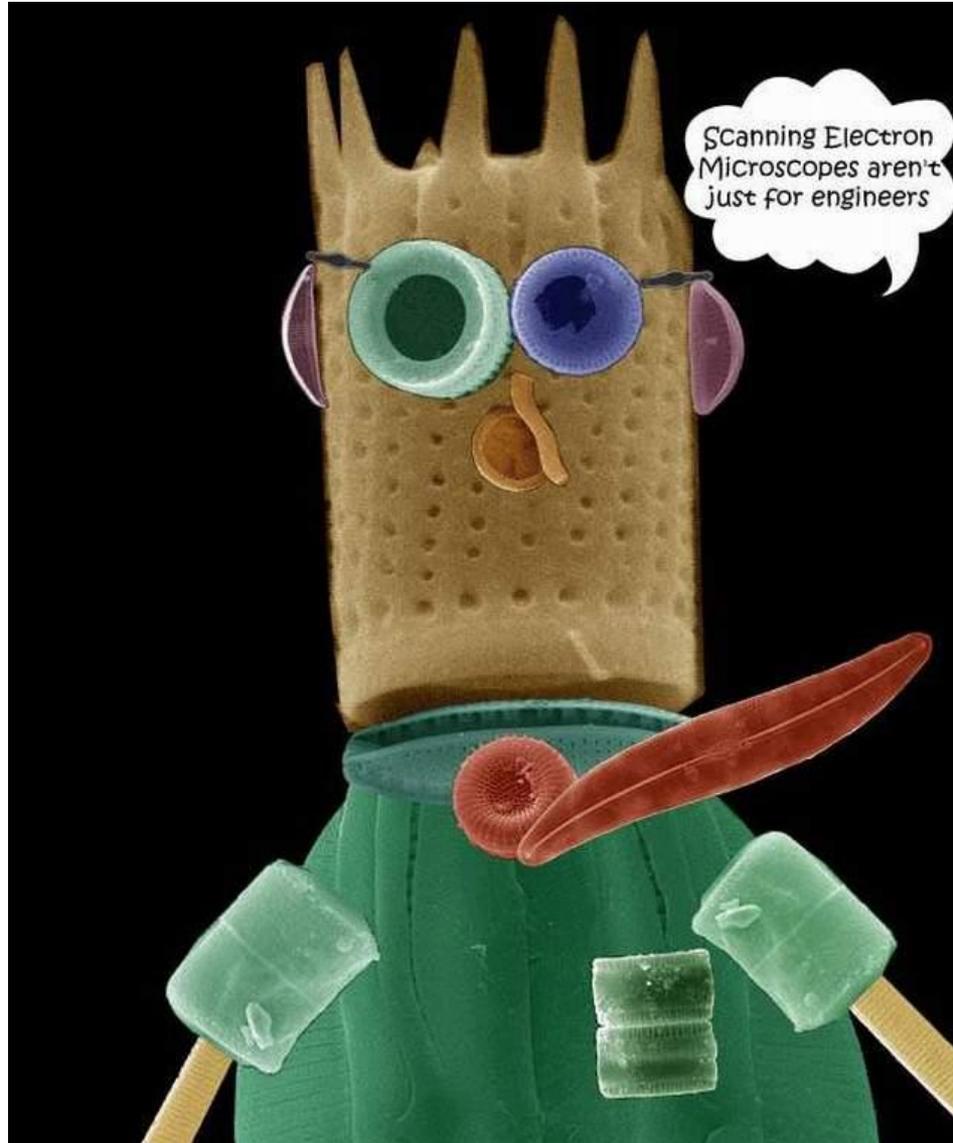
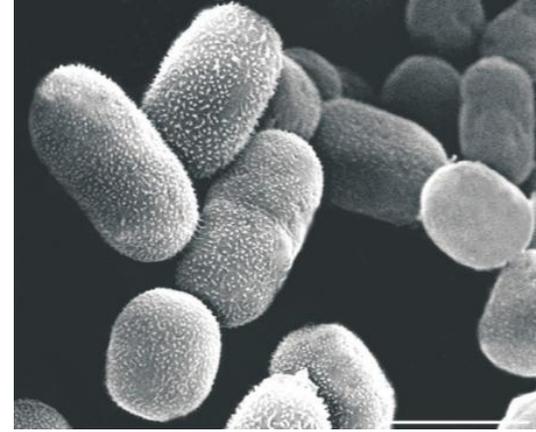


Image courtesy Karl Haggund, Northern Kentucky University



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

I CIANOBATTERI



- Chiamati un tempo Alghe Azzurre
- Organismi Procarioti Foto-Autotrofi
 - Luce e composti inorganici per la sintesi dei composti organici
- Azotofissatori
 - Azoto gassoso integrato in molecole più complesse, come l'ammoniaca e i nitrati, entra nella catena alimentare



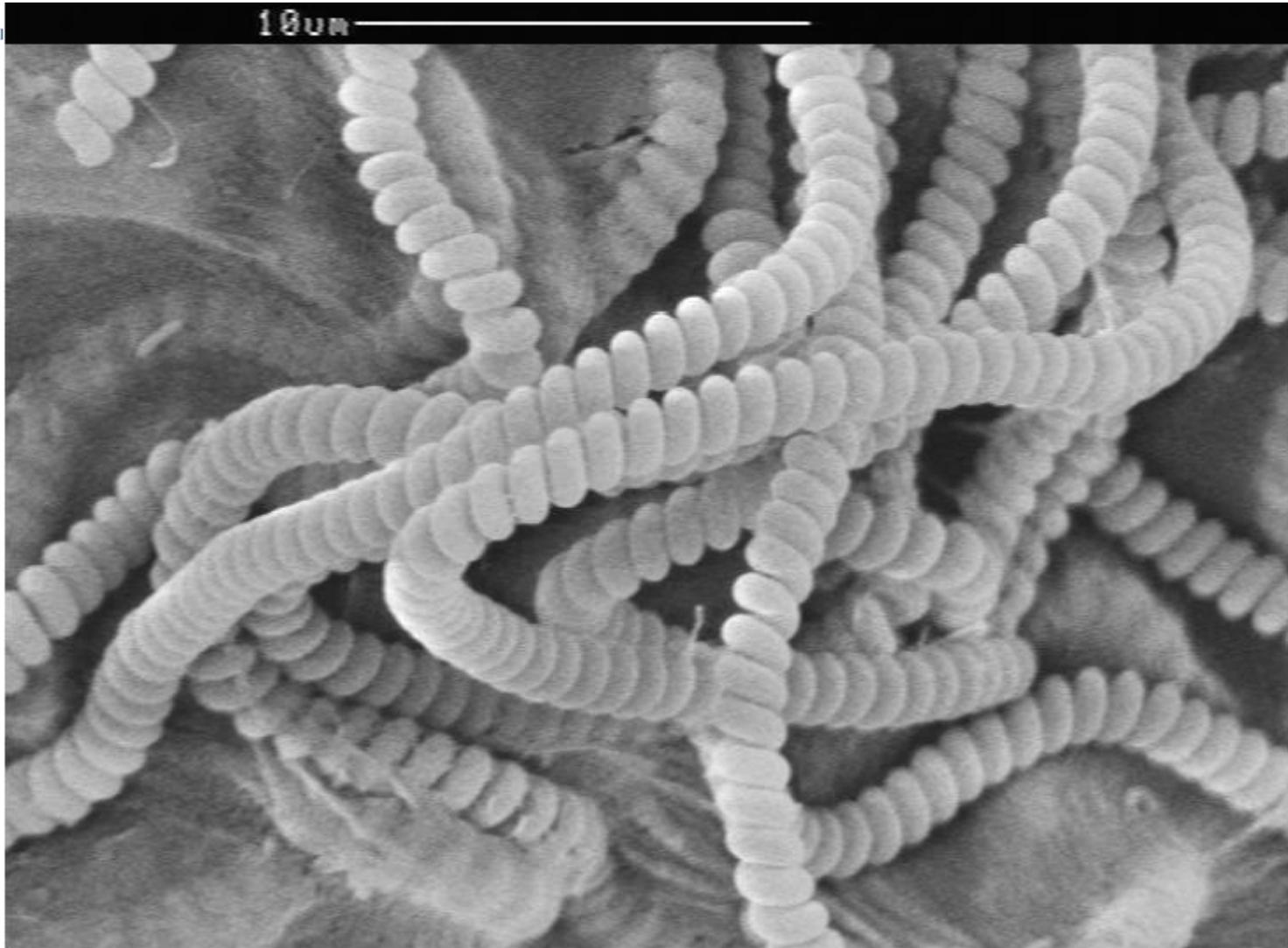
CENTRO STUDI TERMA
PIETRO D'ABANO

20um



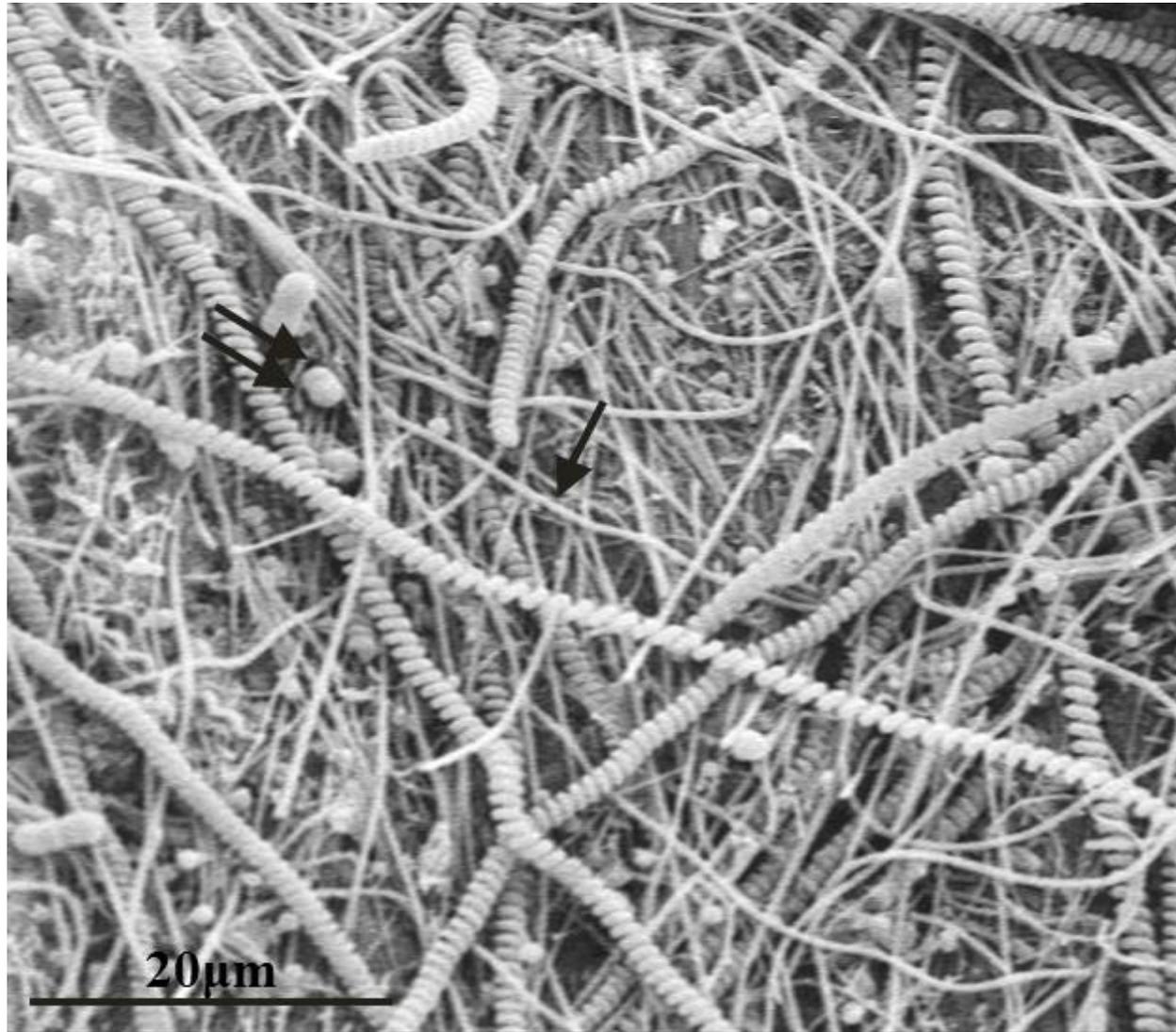


CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO



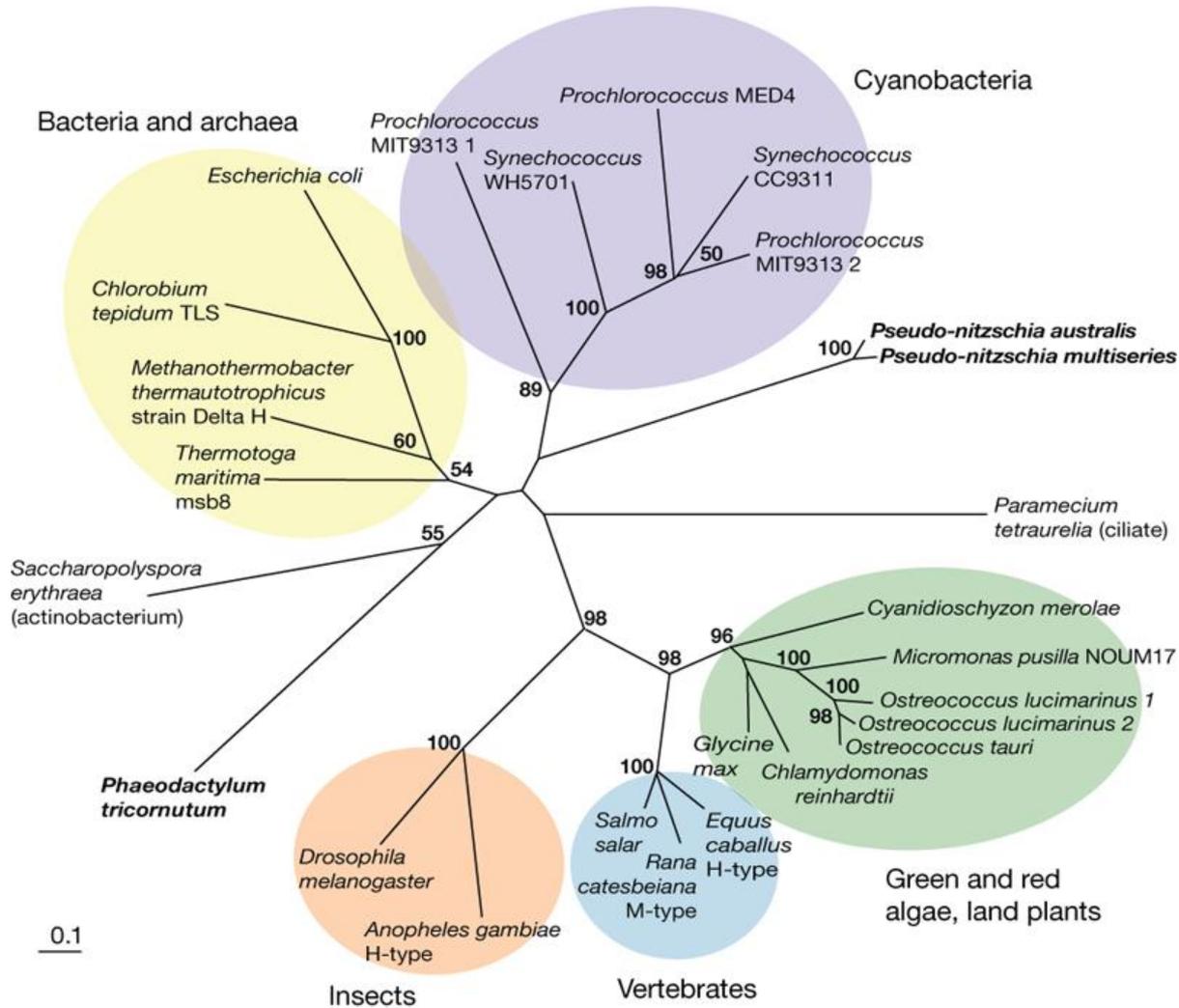


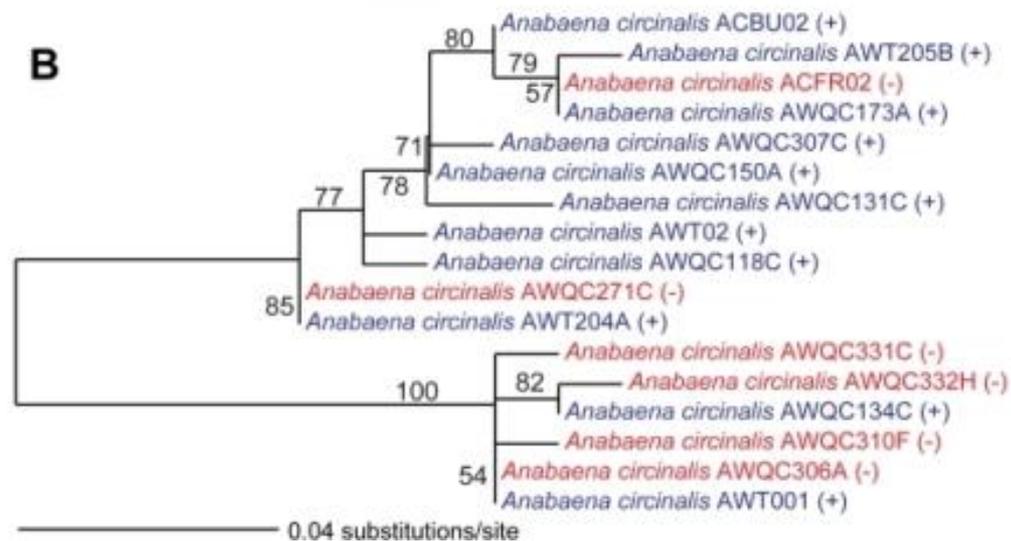
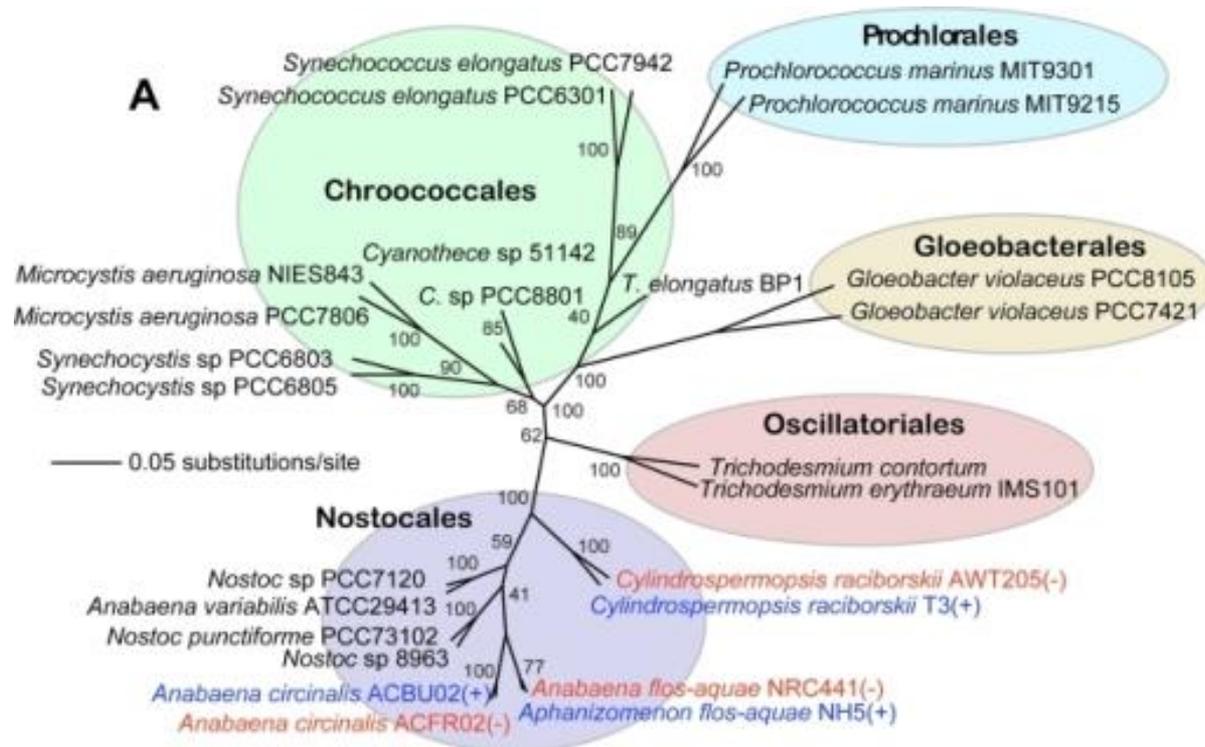
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO





Tassonomia







CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

A temperature altissime





CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Morning glory pool, Yellowstone hot spring





CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

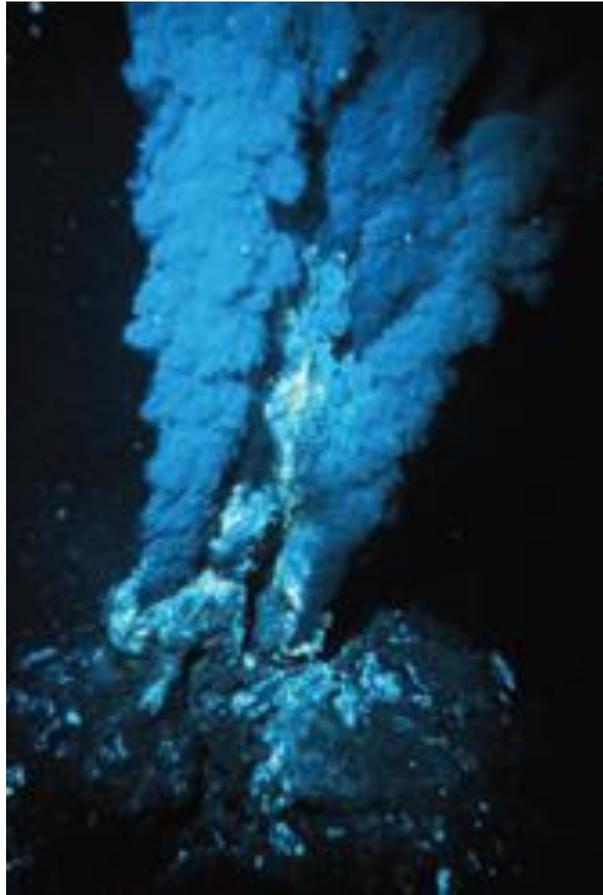
In un mare di sale





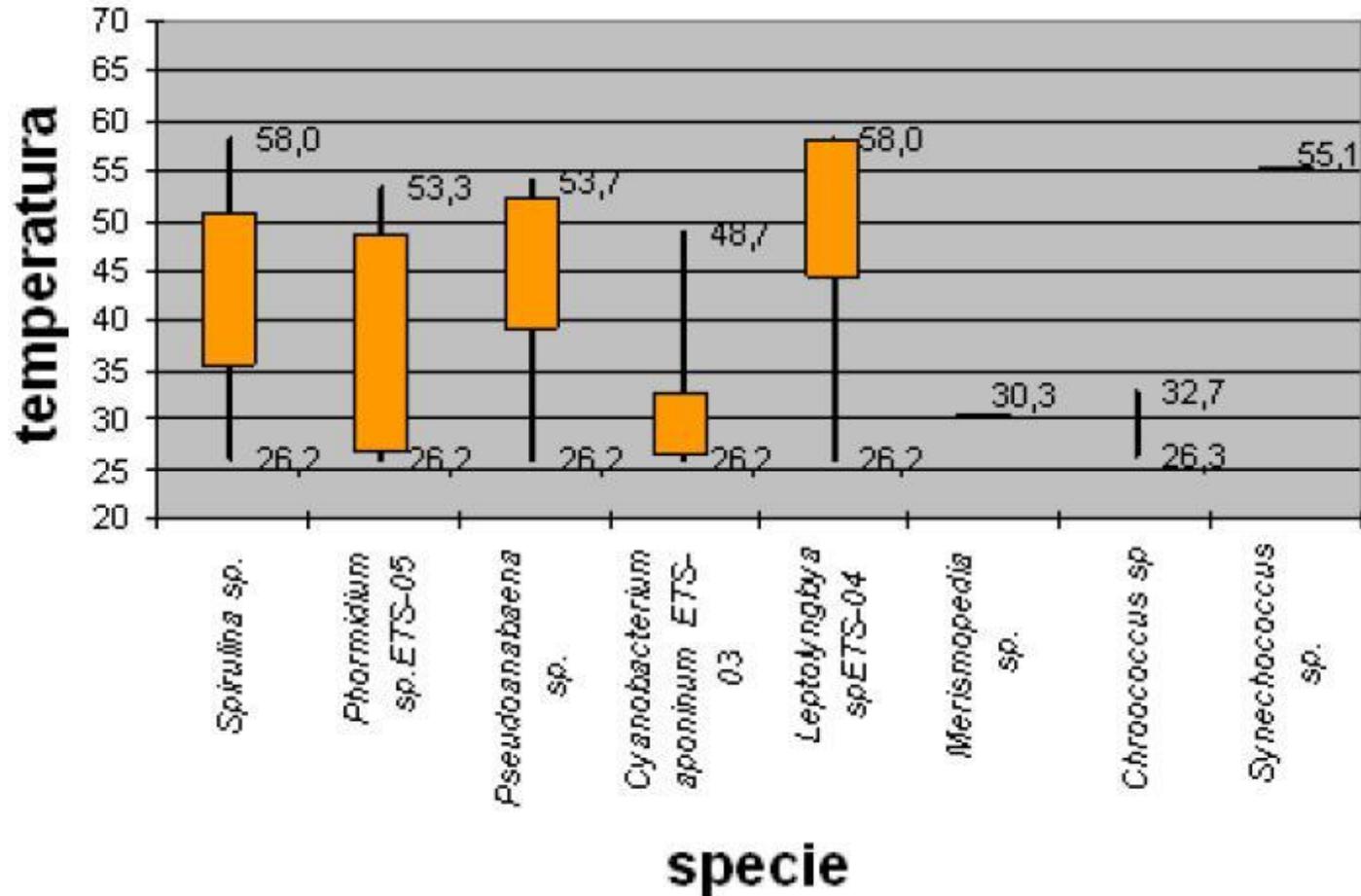
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Nel fondo degli oceani





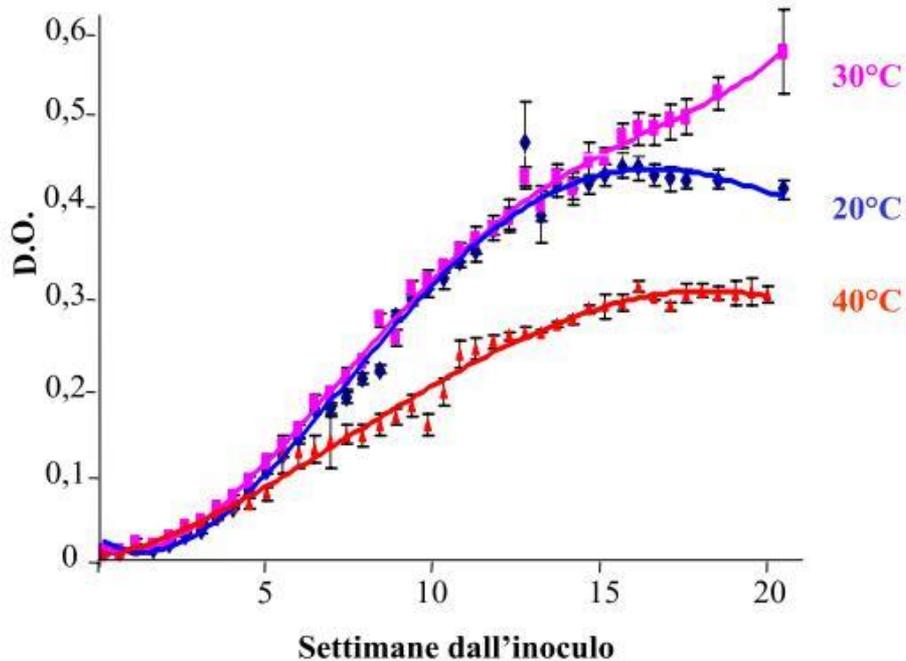
Viability



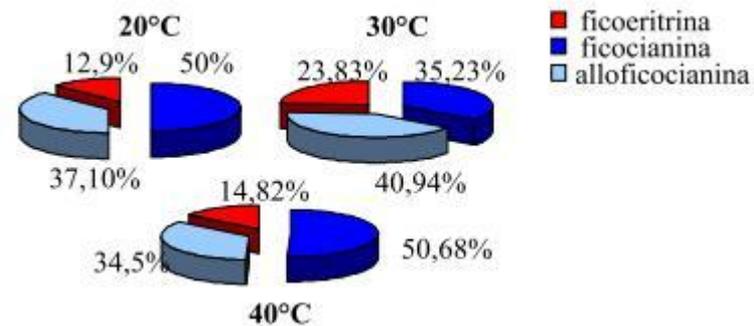
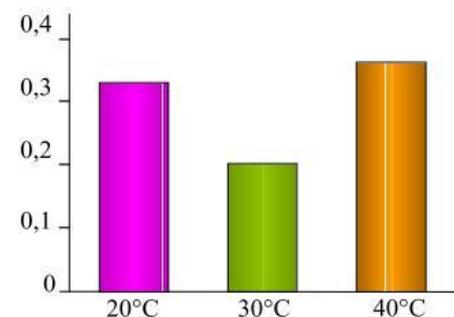


CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Growing conditions (es. ETS-03)



Car/Clor *a*





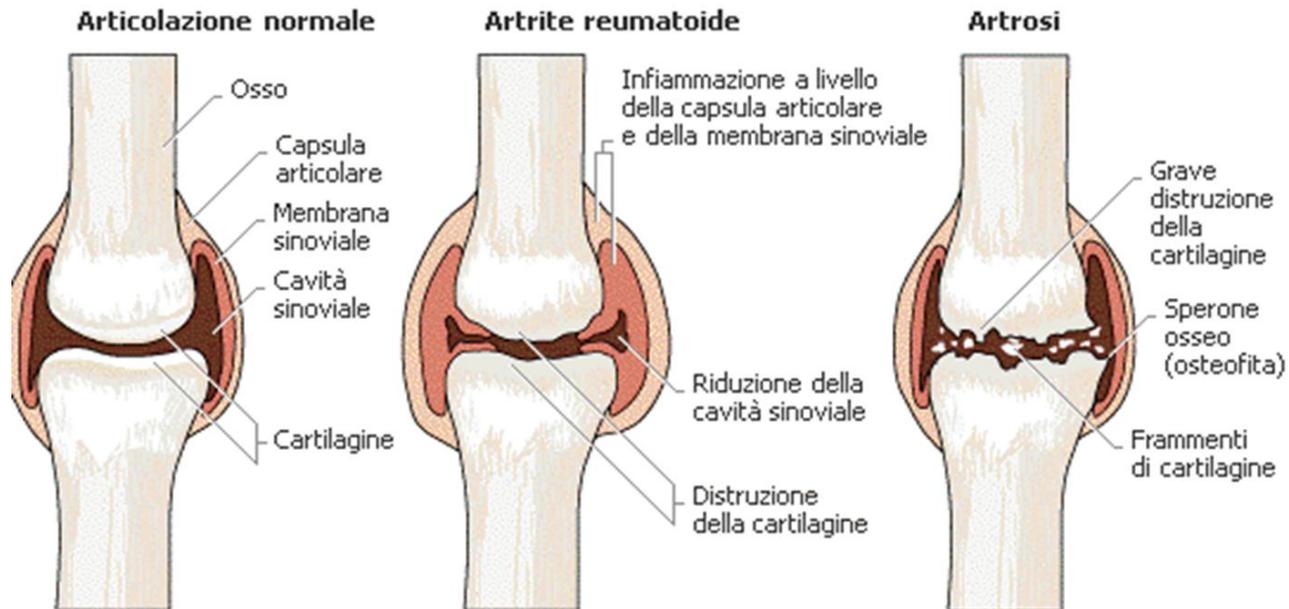
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Efficacia della fangobalneoterapia



Fango-balneo-terapia

- Principalmente indicata per le patologie osteo-articolari
 - Patologie invalidanti
 - Spesso dolorose
 - Sempre presente la componente infiammatoria





La componente **infiammatoria**

- Molti studi riportano per l'artrosi l'infiammazione della membrana sinoviale in maniera indistinguibile dall'artrite con un coinvolgimento simile delle citochine infiammatorie
- Evidenze sull'importanza della componente infiammatoria nell'induzione del danno osteoarticolare;
- Le prostaglandine favoriscono l'infiammazione e sono indotte dall'IL1
- Le prostaglandine sono il target dei FANS



Tessuti articolari e terapia termale

- Già negli anni '90 sono stati dimostrati i benefici a breve e a lungo termine di un ciclo di fango-balneoterapia
- Non solo un effetto sui sintomi ma anche su molti aspetti della degenerazione della cartilagine articolare con reazione anabolica dei condrociti
- Riduzione nell'uso dei FANS e degli indesiderati effetti collaterali



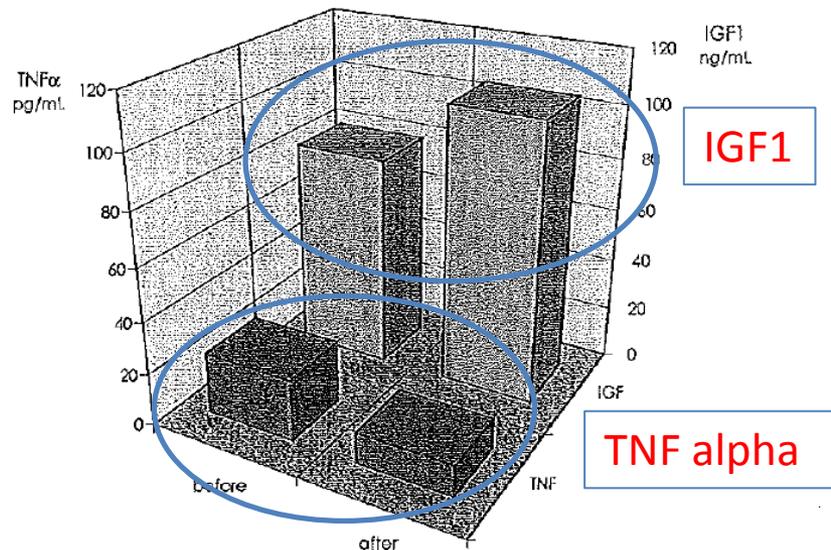
CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Mud pack therapy in osteoarthritis. Changes in serum levels of chondrocyte markers

Bellometti S, Cecchettin M, Galzigna L. Clin Chim Acta. 1997

Abstract

.....increases of insulin growth factor 1 and decreases of tumor necrosis factor alpha in serum of osteoarthrosic patients after 12 days of mud pack application.....



Condroprotettivo

Pro-infiammatorio

Fig. 3. Mean IGF 1 and TNFα serum levels before and after 12 days of mud therapy.



Cytokine levels in osteoarthritis patients undergoing mud bath therapy

Bellometti S et al Int J Clin Pharmacol Res. 1997

Abstract

.....Our data suggest that mud bath therapy influences cytokines related to osteoarthritis pathomechanism and maintenance.....

Table 1 *IL-1, TNF α and IGF serum levels before and after mud bath therapy.*

	before (M \pm SD)	after (M \pm SD)	signif.
IL-1 (pg/ml)	6.6 \pm 4.0	0.5 \pm 0.6	$p < 0.05$
TNF α (pg/ml)	23.7 \pm 23.5	11.9 \pm 17.8	$p < 0.05$
IGF 1 (pg/ml)	80.6 \pm 34.0	105.8 \pm 44.80	$p < 0.05$



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Serum levels of a *prostaglandin* and a *leukotriene* after thermal mud pack therapy

Bellometti S, Galzigna L. J Investig Med. 1998

Abstract

CONCLUSIONS:

Mud pack therapy exerts a protective effect on the cartilage and is able to induce pain relief by reducing the inflammatory reaction.

	Before (M±SD)	After (M±SD)	Significance
PGE (pg/mL)	3465 ± 1828	1815 ± 480	$p < 0.05$
LTB ₄ (pg/mL)	541.2 ± 400.9	140.0 ± 151.1	$p < 0.05$

Table 1. PGE₂ and LTB₄ serum levels before and after mud pack therapy.



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Efficacia terapeutica: solo calore ed
elettroliti?



Fango maturo

- Il fango ha una microstruttura micellare, simile ai liposomi, determinante per l'assorbimento cutaneo
- Consente l'idratazione cutanea, è un sistema dermatrofico, è un mezzo attivo, capace di veicolare transcutaneamente molecole farmacologicamente attive
- Temperatura e luce influenzano la composizione in acidi grassi delle membrane microbiche che arricchiscono il fango di componenti fosfolipidici e solfolipidici.
- Ha una attività anti-infiammatoria e analgesica dimostrata.



Physical and biochemical changes of thermal mud after maturation

L Galzigna et al, Biomedicine & Pharmacotherapy , 1996

Summary

Thermal mud is a therapeutic agent whose antirheumatic effectiveness is optimized by a process of maturation. The maturation of thermal mud was followed at 48 °C under controlled conditions by measuring physical and biochemical changes due to the growth of colonizing thermophilic microorganisms. Thermogravimetric measurements allowed us to identify the building up of an organic component including phospholipids and in particular a previously recognized sulfoglycolipid, which was further purified. The compound may be responsible for the antirheumatic effect of the mud and is produced by the colonizing species which develop in a period of maturation subsequent to that of production of photosynthetic pigments.



Maturation of thermal controlled conditions and identification of an antiinflammatory fraction

Galzigna L. et al Phys Rehab Kur Med 1995

- Identification of a **chromatographic fraction rich of sulfolipids**
- Labelling of the fraction
- Radioactive labelled fraction disappears from mud and is able to cross rat skin.
- Same result with non labelled fraction on patients



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Diacylglycerolipids isolated from thermophile cynobacterium from Euganean hot springs

G. Marcolongo et al, Natural Product Research, 2006

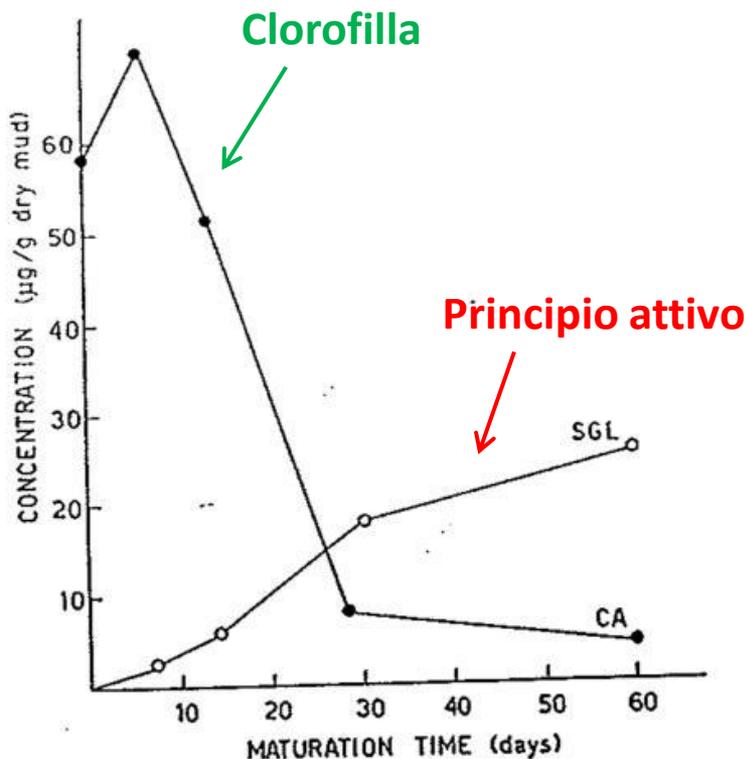
Abstract

CONCLUSIONS:

We propose that these glyco-glycerolipids can be used as
markers for monitoring the thermal mud colonization
process.



Parametro di controllo del processo di maturazione

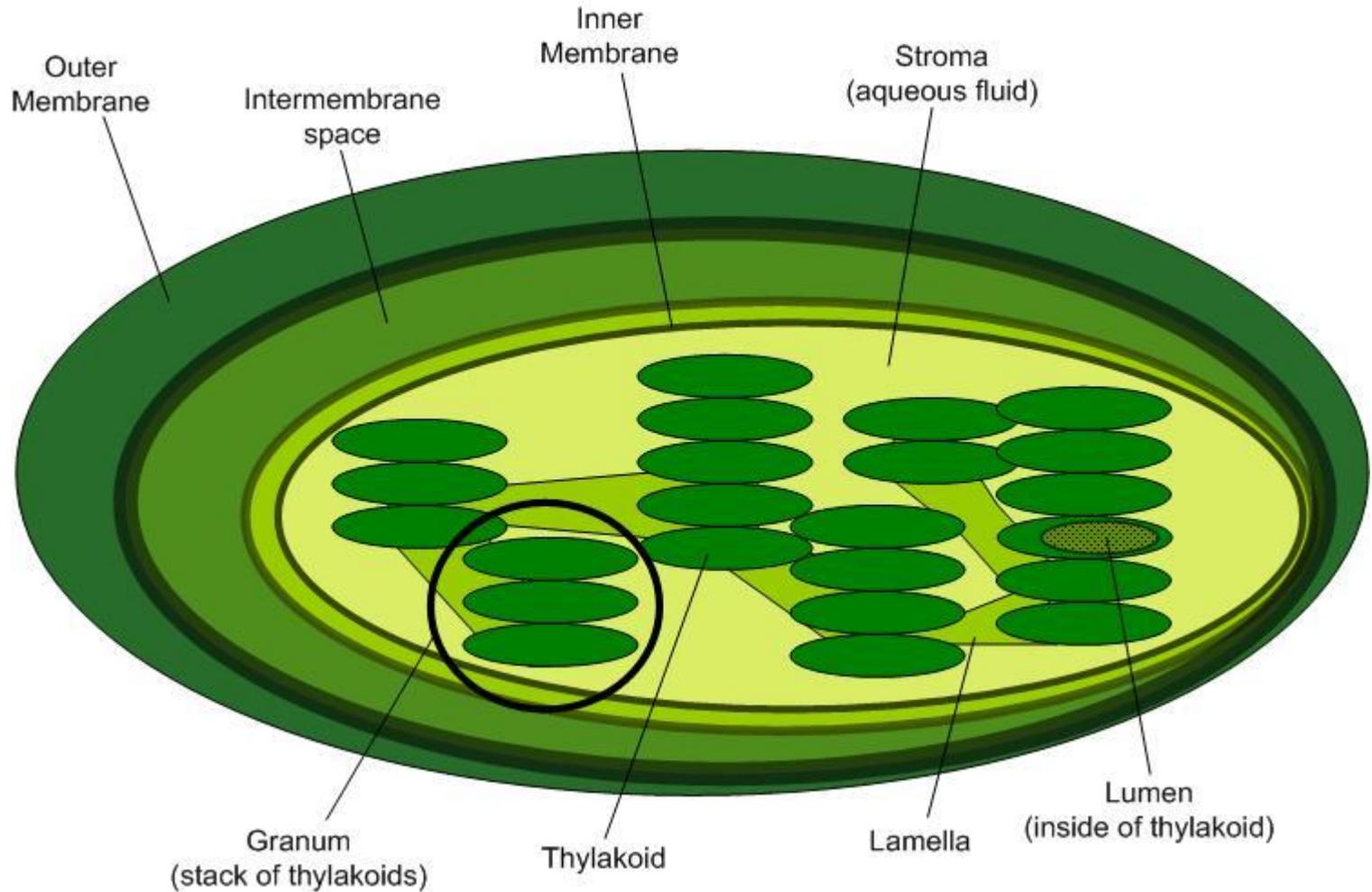


- **Maturazione di 60 giorni**
- **Rapporto inverso nella produzione di clorofilla-a e sulfoglicolipide.**

Fig. 1. Production of chlorophyll *a* (CA) detected by absorbance at 666 nm and chromatographically purified (TLC) sulfoglycolipid (SGL) as a function of mud maturation time. Average values of four experiments.



Membrane e Principi Attivi



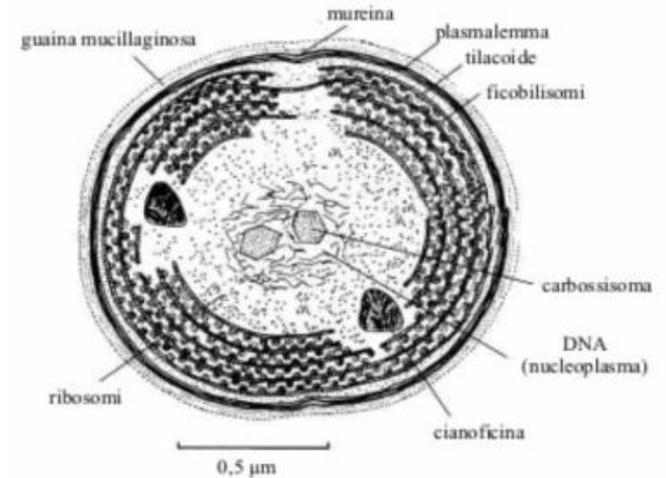


Composizione delle membrane

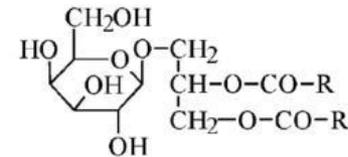
- Componenti attive

- Monogalattosildiacylglicerolo (**MGDG**)
- Digalattosildiacylglicerolo (**DGDG**)
- Sulfochinovosildiacylglicerolo (**SQDG**)
- Fosfatidilglicerolo (**PG**)

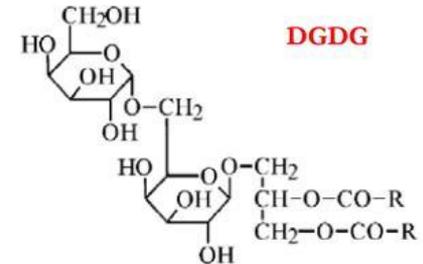
- Cianobatteri come il *Phormidium* (ETS-05) sono ricchi in acidi grassi polinsaturi.



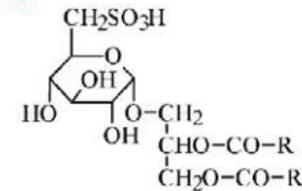
MGDG



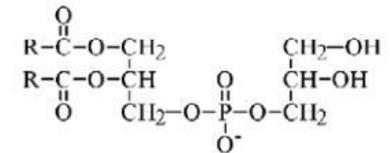
DGDG



SQDG



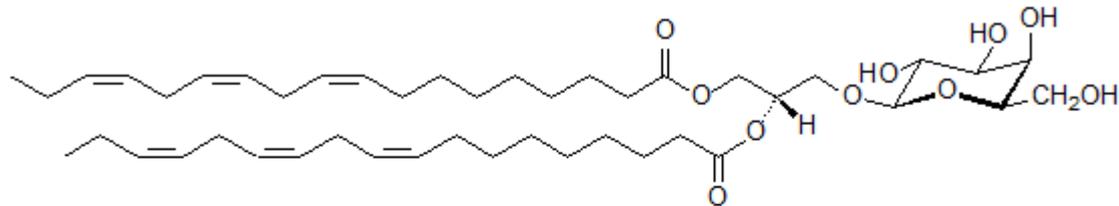
PG



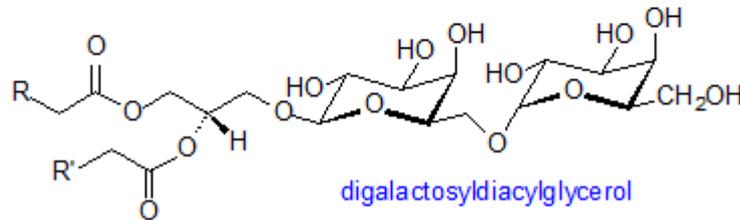


Biochemical structure

- Mainly C₁₈ fatty acids at the *sn*-1 position of the glycerol backbone, and only C₁₆ fatty acids at the *sn*-2 position. It is termed a "prokaryotic" structure (as it is characteristic of cyanobacteria).



1,2-di-(9Z,12Z,15Z)-octadecatrienoyl-3-O-β-D-galactosyl-*sn*-glycerol



digalactosyldiacylglycerol



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Attività antinfiammatoria dell'MGDG sulla cartilagine articolare **aviaria** adulta

Monogalactosyl Diglyceride anti-inflammatory activity on adult articular cartilage

M. Lenti et al., Natural Product Research, 2009

- MGDG reprime con un modello dose-risposta la sintesi di proteine espresse a seguito di uno stimolo infiammatorio (es. lipocalina Ex-FABP, Avidin, SAA)
- è più efficace degli NSAIDS Diclofenac e Diacerein
- Non causa sofferenza o morte cellulare



CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Attività antinfiammatoria dell'MGDG sulla cartilagine articolare **umana** adulta

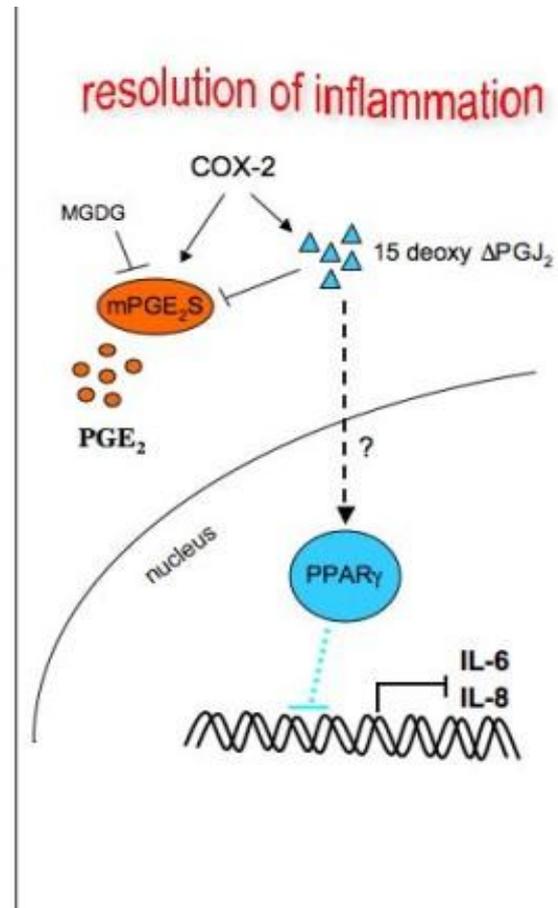
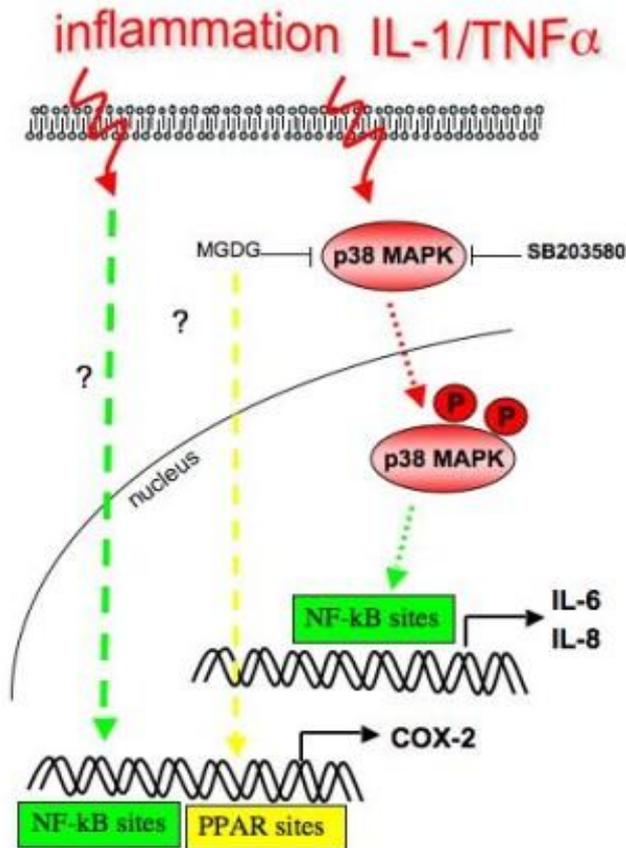
- Anti-inflammatory activity of monogalactosyldiacilglycerol in human articular cartilage in vitro: activation of an anti-inflammatory cyclooxygenase (COX-2) pathway

Ulivi et al., Arthritis Research & Therapy, 2011

- Repressione delle interleuchine 6 e 8
- Attivazione di un loop anti-infiammatorio mediato dalla COX-2



Ipotesi di meccanismo in condrociti articolari





CENTRO STUDI TERMALI
PIETRO D'ABANO

Il Brevetto Europeo



		Europäisches Patentamt	
(19) European Patent Office			
Office européen des brevets		(11) EP 1 571 203 A2	
EUROPEAN PATENT APPLICATION			
(43) Date of publication: 07.09.2005 Bulletin 2005/36		(51) Int Cl.: C12N 1/20 , C12N 13/00, C12P 7/64, C12P 11/00, C12P 19/44, A61K 31/70	
(21) Application number: 05100038.8			
(22) Date of filing: 05.01.2005			
(84) Designated Contracting States: AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR Designated Extension States: AL BA HR LV MK YU		• Andreoli, Carlo 35020 Albignasego (IT) • Ceschi Berrini, Cristina 35127 Padova (IT) • De Appolonia, Francesca 33080 Prata di Pordenone (IT) • Marcolongo, Gabriele 35020 Due Carrare (IT)	
(30) Priority: 09.01.2004 IT MI20040011		(74) Representative: Gervasi, Gemma et al Notarbartolo & Gervasi S.p.A., Corso di Porta Vittoria, 9 20122 Milano (IT)	
(71) Applicant: CENTRO STUDI TERMALI VENETO PIETRO D'ABANO DI ABANO TERME MONTEGROTTO TERME 35031 Abano Terme (IT)			
(72) Inventors: • Lalli, Alberto 35031 Abano Terme (IT)			
(54) Anti-inflammatory active principles in Euganean thermal mud			
(57) The present invention relates to a cyanobacterium present in Euganean thermal mud, to glycolipids with anti-inflammatory activity produced therefrom, to medicaments comprising said glycolipids and to a mat-		uration process suitable for obtaining a thermal mud enriched with the aforesaid cyanobacterium.	

Printed by Jouve, 75001 PARIS (FR)

EP 1 571 203 A2



GRAZIE!