

APE MINERALE LITINIFERE

Munteanu Constantin¹, Munteanu Diana²

¹ SC BIOSAFETY SRL-D

² Asociația Română de Balneologie

Abstract

Cercetările hidrologice au arătat că subsolul României conține o varietate de resurse balneare situate în interiorul sau la suprafața scoarței terestre. Apele minerale sunt răspândite pe mai mult de 20% din suprafața țării la diferite adâncimi, având o largă gamă de proprietăți fizico-chimice și terapeutice în funcție de geneza lor.

Resursele balneare sunt reprezentate în primul rând de substanțe minerale terapeutice, care prin proprietățile fizico-chimice răspund necesităților profilactice și medicale de menținere, consolidare și refacere a stării de sănătate, a capacității de muncă și de reconfortare fizică și psihică a individului.

Sunt considerate ape minerale terapeutice, apele ivite la suprafață dintr-o sursă naturală sau aduse la zi prin foraje și ale căror caracteristici fizico-chimice pot exercita efecte farmaco-dinamice cu rol terapeutic. Apele minerale sunt apele care au un conținut variabil de săruri, gaze, substanțe minerale, elemente radioactive, care le conferă proprietăți terapeutice. În trecut, denumirea de apă minerală se atribuia tuturor apelor subterane sau superficiale care puteau fi utilizate în scopuri terapeutice. În ultimii ani, apelor minerale destinate scopurilor terapeutice li s-a dat denumirea de ape curative.

Litiul stârnește un deosebit interes științific pentru că, deși are o structură atât de simplă, o chimie ușor de analizat și proprietăți fizice bine stabilite, pleiada de efecte asupra sistemelor biologice prin influențarea numeroaselor procese celulare și moleculare și mecanismul său de acțiune încă neelucidat generează un mister pe care știința modernă încearcă să îl descifreze.

LITIU 1mM Ziua 7

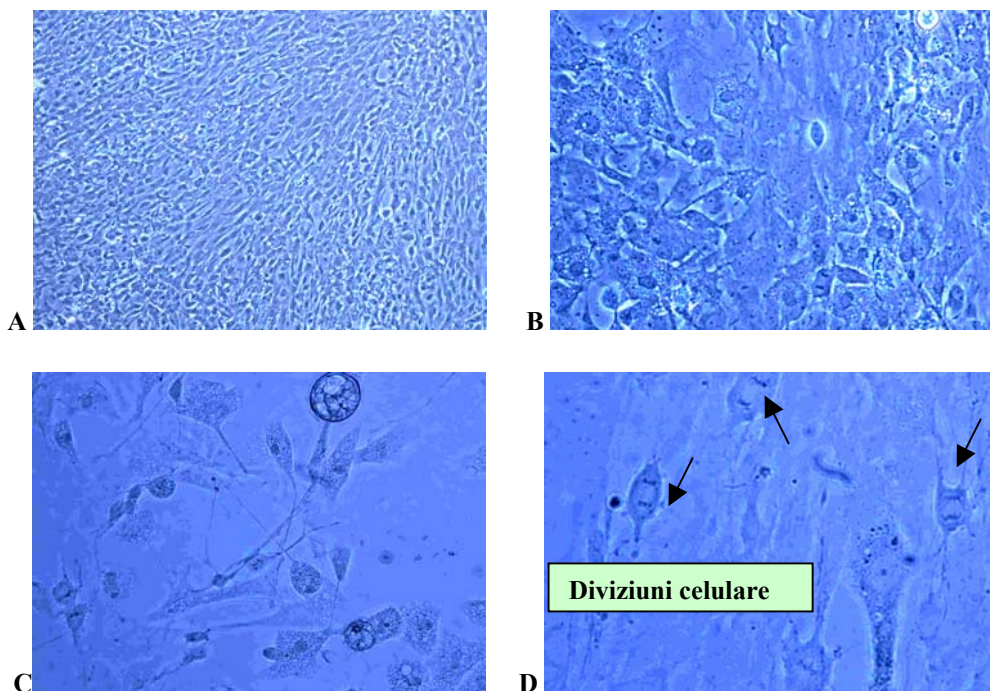


Fig. 16 Aspect de microscopie optică al culturii de 7 zile tratată cu LiCl 1mM (A- mărire x10 – insula de celule, B- mărire x30, C- mărire x40, D- mărire x40)

Studii in vivo și in vitro au demonstrat că litiul exercită multiple efecte asupra semnalizării receptor mediate prin neurotransmițători, transportului ionic, cascadelor de semnalizare, reglării hormonale, ritmicității circadiane și expresiei genice (Cyrus et al., 2006). Din păcate, mecanismele moleculare responsabile pentru toate aceste efecte sunt încă un subiect de dezbateră. Mecanismele biochimice ale acțiunii litiului apar ca fiind multifactoriale și inter-corelate cu funcționarea mai multor enzime, hormoni și vitamine, ca și cu factori de creștere și transformare (Schrauzer, 2002).

Efectele acute ale litiului sunt mediate prin inhibarea unor enzime specifice implicate în două căi distincte dar interactive de semnalizare – calea protein kinazei C și cascada glicogen-sintetazei kinazei 3β - care converg la nivelul transcripției genice.

Expresia unor gene, inclusiv factori transcripționali, este semnificativ schimbată de administrarea cronică a litiului. Tratamentul cronic cu litiu crește expresia proteinei neuroprotective Bcl2, determinând posibilitatea interesantă ca unele efecte ale litiului să fie mediate prin efecte neurotrofice/neuroprotective (Ikononov și Manji, 1999).

În centrul României, în județul omonim, așezat în depresiunea Brașovului, la poalele vestice ale munților Vrancei, la o altitudine ce variază între 550 și 600m, la 31 Km est față de municipiul

Sfântu Gheorghe, se află orașul Covasna - un important centru pentru îmbutelierea apelor minerale.

Apa minerală medicinală cunoscută sub denumirea Maria este îmbuteliată în stațiunea balneoclimaterică Malnaș-Băi. Stațiunea Malnaș-Băi este situată în defileul care desparte Munții Bodoc de Munții Baraolt, la cca 22 Km de Sf. Gheorghe. Climat fără amplitudini termice mari, temperatura medie anuală este de 7° C iar cantitatea medie anuală de precipitații de 600 mm. Formarea stațiunii datează încă din anul 1759, iar după 1865 renumele său ajunge și peste hotare.

Apa minerală Maria este o apă bicarbonată, clorurată, sodică, carbogazoasă, hipotonă, utilizată pentru cură internă și îmbuteliere.

Apa minerală medicinală Maria este îmbuteliată încă din anul 1904, de când a fost recomandată la tratarea diferitelor boli digestive, cum ar fi afecțiuni ale tubului digestiv (gastrite cronice hiperacide, ulcere gastrice și duodenale, colite cronice, constipația cronică), acțiuni hepatobiliare (dischinezia biliară, hepatita cronică, pancreatita cronică, colecistita cronică necalculoasă sau calculoasă), boli asociate: nevroză astenică, migrenă, tulburări afective.

Apa medicinală Maria de la Malnaș-Băi, cu un conținut de 8 mg litiu la litru a fost utilizată în cercetări clinice și experimentale în tratamentul migrenei și tulburărilor afective, afecțiuni care nu au intrat în spectrul terapeutic al apei în trecut.

LITIU 2 mM Ziua 12

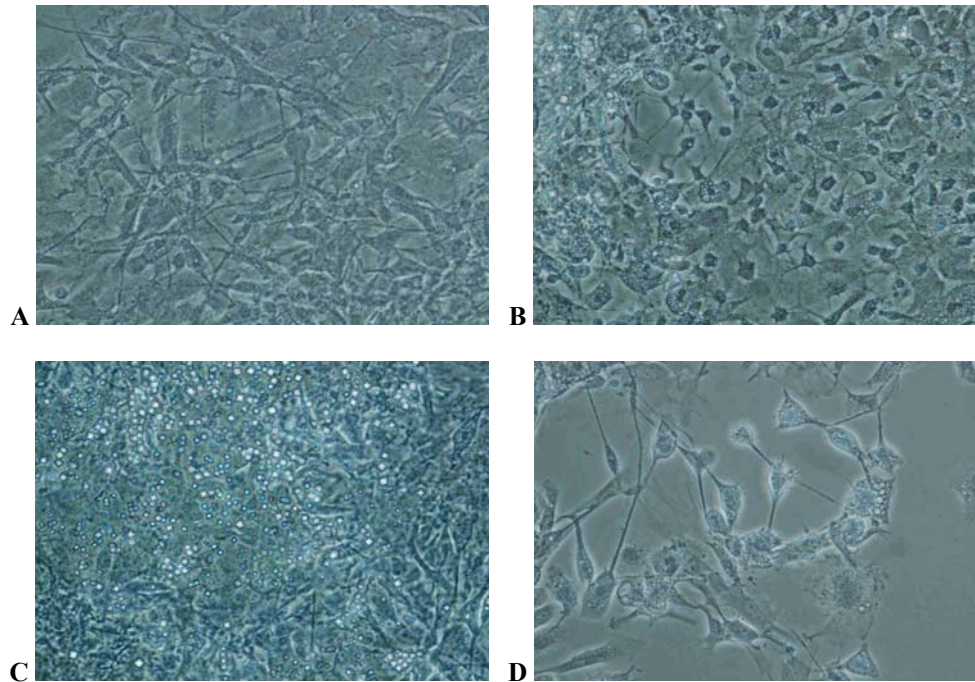


Fig. 24 Aspect de microscopie optică al culturii de 12 zile tratată cu LiCl 2mM
(A- mărire x40 , B- mărire x30, C- mărire x30, D- mărire x40)

Efectele litiului asupra sistemului nervos au fost studiate intensiv datorită utilizării acestuia în tratamentul psihozei maniaco-depresive (Gilles și Bannigan, 1997; Lenox și Hahn, 2000).

Tratamentul cu clorură de litiu a început din ziua a 6-a de cultivare a celulelor gliale, după faza de lag, moment ce corespunde startului multiplicărilor celulare, a formării insulelor celulare și a diferențierii celulare pronunțate.

Tratamentul cu clorură de litiu presupune utilizarea unui mediu de cultivare preparat împreună cu o cantitate de clorură de litiu ce corespunde unei concentrații de 1 și respectiv 2 mM litiu. Conform protocolului de lucru utilizat, prepararea mediului cu clorură de litiu presupune obținerea unei soluții stoc de clorură de litiu de 20 mM, în mediu DMEM, din care se utilizează volume specifice pentru obținerea concentrațiilor dorite.

Schimbarea mediului și aplicarea tratamentului cu litiu, la concentrația de 1 și respectiv 2 mM, are loc la o frecvență de trei zile de cultivare.

Concentrația de 1mM litiu corespunde nivelului seric terapeutic al litiului, atins în cadrul tratamentului maniaco-depresiei, nivel ce trebuie atent monitorizat pentru a nu fi depășit.

Concentrația de 2 mM litiu reprezintă o doză toxică pentru organism, fapt demonstrat de majoritatea studiilor desfășurate până în prezent în diferite centre de cercetare care au vizat efectele litiului.

Efectele biologice ale litiului pot fi împărțite în: efecte pe termen scurt (manifestate la scurt timp după aplicare și probabil mediate prin complexul celular disponibil) și efecte pe termen lung (presupuse a se baza pe schimbările selective în expresia genelor și care apar după o perioadă de întârziere de la câteva zile la săptămâni). Multe dintre efectele litiului pe termen scurt par a fi specifice celulelor sau țesuturilor. Exemple de efecte stimulatorii pe termen scurt includ secreția de corticotropină indusă de litiu a celulelor pituitare anterioare de șobolan și eliberarea masivă de glutamat la porțiuni din creier tratate cu litiu. Efectele inhibitorii ale tratamentului pe termen scurt cu litiu sunt dovedite de secreția de aldosteron indusă de angiotensina II a celulelor glomerulare renale și coeficientul de relaxare ce urmează inducerea colinergică a contracției mușchiului neted.

Printre schimbările fenotipice pe termen lung se pot menționa alterări induse de litiu asupra ritmului circadian și desigur schimbări de comportament la pacienții cu afecțiuni bipolare apărute după 2-3 zile sau câteva săptămâni.

Tratamentul cronic cu litiu la șobolanii de laborator duce la un deficit persistent de execuție la unele teste de comportament (evitarea activă și vizuală a labirintului), luând în considerare că deficitul la o sarcină cu memorie spațială este trecător.

M25-ziua 14

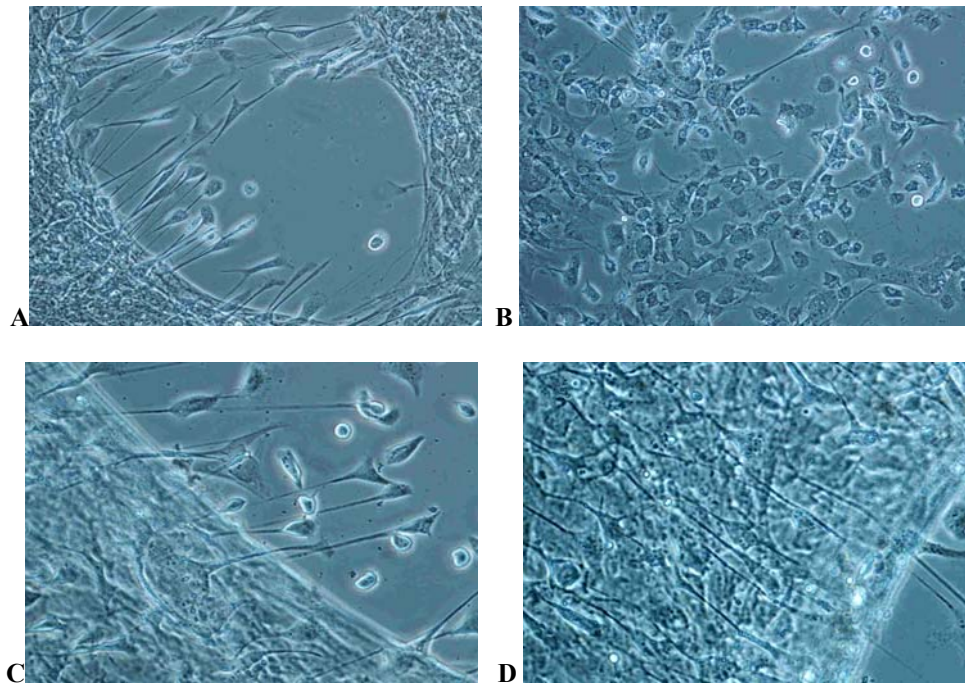


Fig. 38 Aspect de microscopie optică al culturii de 14 zile tratată cu apă MARIA 25% (A- mărire x30, B- mărire x30, C- mărire x30, D- mărire x40)

Celulele gliale cultivate în prezența apelor minerale bogate în litiu reprezintă modelul experimental pentru verificarea ipotezelor privind rolul acestora în îmbunătățirea parametrilor de creștere a celulelor gliale *in vitro*.

Tratamentul cu apa minerală Maria presupune prepararea mediului de cultivare înlocuind o parte din apa bidistilată necesară în procesul de obținere cu apa minerală litiniferă Maria. Modelul experimental presupune utilizarea unor medii de tratament cu 50% și 25% apă minerală Maria, ceea ce înseamnă practic înlocuirea a 50% și respectiv a 25% din apa bidistilată necesară cu apa minerală Maria de la Malnaș-Băi.

Un al treilea caz pentru urmărirea efectelor apei îl constituie adăugarea la varianta cu 25% apă minerală Maria a unei concentrații de 1mM LiCl, pentru a monitoriza efectul creșterii cantității totale de litiu din apă.

Sterilizarea mediilor de cultură preparate cu apă minerală Maria și utilizate în tratamentul culturilor de celule gliale se realizează prin filtrare prin membrană de nitroceluloză, cu diametrul porilor de 0,2 μ m.

Schimbarea mediului și aplicarea tratamentului cu apă minerală Maria, la concentrația de 50%, 25% și respectiv 25% + LiCl 1mM, are loc la o frecvență de două-trei zile de cultivare.

Tratamentul cu apa Maria a început din ziua a 6-a de cultivare a celulelor gliale, după faza de lag, moment ce corespunde startului formării insulelor celulare și a diferențierii celulare pronunțate.

Alegerea concentrațiilor de apă s-a făcut în corelație cu capacitatea fiziologică de ingestie de apă a organismului, sub ipoteza că în sânge se poate înlocui în 24 de ore maxim 25% din volumul serului cu apa consumată zilnic (1,5 - 2 litri apă pe zi), urmând a fi filtrat și eliminate sărurile la nivel renal, digestiv și prin piele.

Concentrația de 50% apă minerală Maria este aleasă numai în scopul experimental de a urmări efectul pe care acest nivel foarte ridicat îl are asupra celulelor gliale *in vitro*. Acest nivel nu are nici o valoare terapeutică, deoarece organismul nu are cum să dispună de o cantitate de apă consumată atât de mare.

Din punct de vedere experimental, concentrația de 50% reprezintă un control pozitiv asupra efectelor pe care apa minerală Maria le poate avea asupra celulelor.

Datele experimentale obținute preliminar, în cadrul studiilor noastre, au arătat că prin înlocuirea 100% a apei bidistilate necesare în procesul tehnologic de preparare a mediului de cultivare a celulelor gliale în cultură, are loc distrugerea culturii în 48 - 72 de ore de la aplicare. S-a constatat astfel că apa minerală Maria, ca atare, nu poate asigura condițiile minimale pentru supraviețuirea *in vitro* a celulelor gliale.

M25-ziua 15

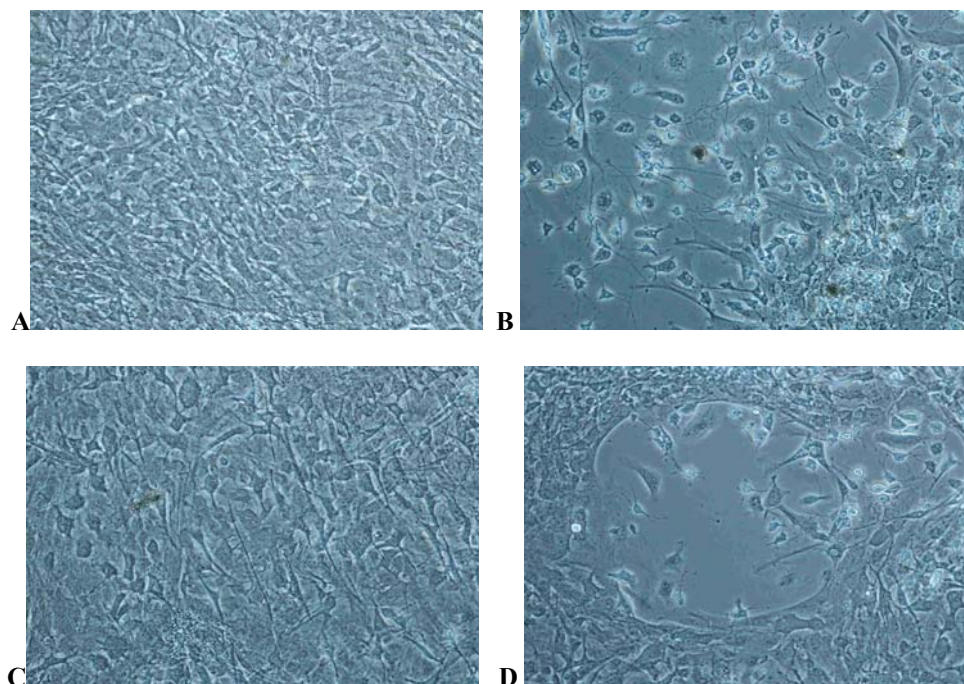


Fig. 39 Aspect de microscopie optică al culturii de 15 zile tratată cu apă MARIA 25%
(A- mărire x15, B- mărire x15, C- mărire x20, D- mărire x15)

References

- Birch N.J. (1999) Inorganic pharmacology of lithium. *Chem. Rev.* **99**: 2659-2682.
- Ikonomov O.C., Manji H.K. – Molecular Mechanisms Underlying Mood Stabilization in Manic-Depressive Illness: The Phenotype Challenge, *American Journal of Psychiatry*, Vol. 156, 1506-1514, 1999;
- Gould T.D., Manji H.K. – In Vivo Evidence in the Brain for Lithium Inhibition of Glycogen Synthase Kinase-3, *Neuropsychopharmacology*, Vol. 29, 32-38, 2004;
- Harwood A.J. – Lithium and bipolar mood disorder: the inositol-depletion hypothesis revisited, *Molecular Psychiatry*, Vol.10, 117-126, 2005;
- Jope R.S. (1999) A bimodal model of the mechanism of action of lithium. *Mol. Psychiatry* **4**: 21-25.
- Hedgepeth C.M., Conrad L.J., Zhang J., Huang H.C., Lee V.M., Klein P.S. (1997) Activation of the Wnt signaling pathway a molecular mechanism for lithium action. *Developmental Biology* **185**, 82-91;
- Klein P.S., Melton D.A. (1996) A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 8455-8459;
- Lenox R.H., Frazer A., Mechanism of Action of Antidepressants and Mood Stabilizers, *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, Edited by Kenneth L.Davis et al, American College of Neuropsychopharmacology, Chapter 79, 1139-1163, 2002;
- Lenox R.H., Gould T.D., Manji H.K. – Endophenotypes in Bipolar Disorder, *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, Vol. 114, 391-406, 2002;
- Phiel C.J., Klein P. (2001) Molecular targets of lithium action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **41**, 789-813;
- Schrauzer G.N. – Lithium: Occurrence, Dietary Intakes, Nutritional Essentiality, *Journal of American College of Nutrition*, Vol.21, Nr.1, 14-21, 2002;
- Timmer R.T., Sands J.M. (1999) Lithium intoxication, *J. Am. Soc. Nephrol* **10**, 666-674;