



APAT

**Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici**

Ormesi: la rivoluzione dose-risposta

“Tutte le sostanze sono tossiche,
solo la dose fa la differenza tra un veleno e un medicamento”

(Paracelso, XVI secolo)

Informazioni legali

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici o le persone che agiscono per conto dell'Agenzia stessa non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo rapporto.

APAT - Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici
Via Vitaliano Brancati, 48 - 00144 Roma
www.apat.it

© APAT

ISBN 88-448-194-9

Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica
APAT

Grafica di copertina: Franco Iozzoli (APAT)
Foto: Paolo Orlandi, Paolo de Zorzi

Coordinamento tipografico e distribuzione
Olimpia Girolamo
APAT - Servizio Stampa ed Editoria
Ufficio Pubblicazioni

Impaginazione e stampa
I.G.E.R. srl - Viale C.T. Odescalchi, 67/A - 00147 Roma

Stampato su carta TCF

Finito di stampare giugno 2006

Autori

D.ssa Antonella Amendola – Dipartimento Difesa della Natura – APAT

D.ssa Nadia Lucia Cerioli – Dipartimento Difesa della Natura – APAT

Prof.ssa Luciana Migliore – Università di Tor Vergata

Per la correzione delle bozze

D.ssa Valentina Rastelli – Dipartimento Difesa della Natura – APAT

INDICE

1. DEFINIZIONE	11
2. CENNI STORICI	13
3. IL MECCANISMO ORMETICO	15
4. LA GAMMA DI RISPOSTE ORMETICHE	19
4.1 Agenti fisici	19
4.2 Agenti chimici	20
5. L'INCIDENZA DELL'ORMESI	21
6. MODELLI IN TOSSICOLOGIA E ECOTOSSICOLOGIA	25
7. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	27
BIBLIOGRAFIA	29

1. DEFINIZIONE

L'ormesi può essere considerata una funzione adattativa caratterizzata da una risposta bifasica dose-dipendente, che si manifesta come conseguenza dell'esposizione a un range molto ampio di stimoli (Calabrese e Baldwin, 2002).

Vi è molta confusione attorno al concetto dell'ormesi e al suo significato dal punto di vista biologico. Esistono risposte adattative o ormetiche a perturbazioni di qualunque tipo; gli organismi sembrano pre-adattati a molti stimoli nocivi, rispondono in modo generalizzato ai cambiamenti che avvengono in processi controllati, indipendentemente da altre specifiche risposte all'agente causativo. In sostanza, i meccanismi di controllo omeostatico e ormetico sono presenti in tutti i sistemi biologici, rispondendo autonomamente a cambiamenti di stato o ad alterazione di meccanismi regolati indotti da agenti esogeni (Stebbing, 1997).

Le risposte ormetiche, in genere, mostrano una modesta stimolazione alle basse dosi (maggiore del 30-60% del controllo) e un'inibizione alle alte dosi. Perciò, affinché sia soddisfatta la definizione "qualitativa" dell'ormesi, devono necessariamente essere presenti tanto la dimensione stimolatoria quanto quella inibitoria. La curva di risposta ormetica può essere rappresentata da una parabola, una U dritta o rovesciata in relazione all'endpoint considerato: si ottiene una risposta a U diritta se si misura un danno all'organismo, come l'aumento della mortalità, l'alterazione di qualche funzione fisiologica o l'incidenza di malattie (come il cancro o le malattie cardiovascolari); si ottiene una risposta a U rovesciata se si misurano funzioni fisiologiche quali accrescimento o sopravvivenza.

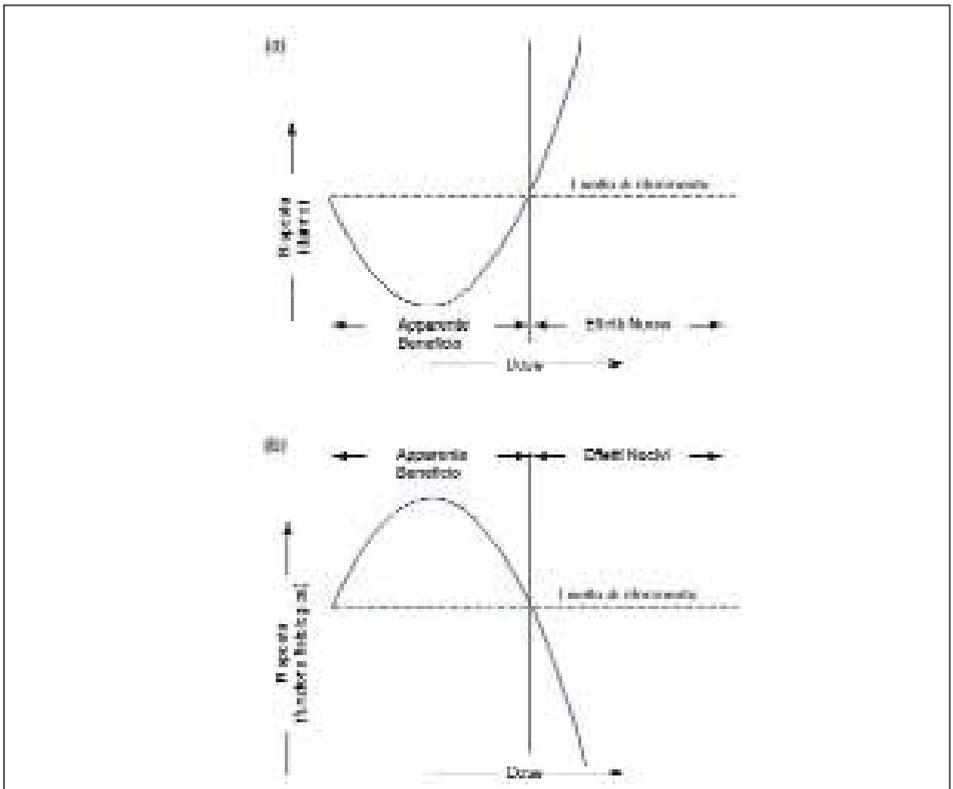


Figura 1. Le curve dose-risposta ad U dritta e rovesciata (Calabrese e Baldwin, 2001a)

La duplice risposta può essere direttamente indotta dallo stimolo che la ha provocata, oppure da altri processi biologici indotti da un'alterazione omeostatica, sebbene sia ormai consolidato considerare l'ormesi una risposta adattativa; la questione se gli effetti stimolatori siano benefici o dannosi non fa parte della definizione del fenomeno, e sarà considerata nell'ambito della valutazione del contesto biologico e ecologico di questa particolare risposta (Calabrese e Baldwin, 2002).

2. CENNI STORICI

L'Ormesi o "ormologosi", come fu chiamata dopo i primi esperimenti e la formulazione di modelli sperimentali, è l'effetto bifasico che una sostanza provoca, a seconda della dose somministrata.

H. Schulz intorno al 1887 fece alcuni esperimenti facendo reagire certe sostanze chimiche con il lievito. Poté osservare uno strano fenomeno, secondo il quale dapprima l'azione espletata era di crescita e di benessere, poi, all'aumentare della concentrazione, l'evento diveniva palesemente tossico. In un secondo momento egli conobbe lo psichiatra R. Arndt col quale formulò la legge detta appunto di Arndt e Schulz che afferma:

"Stimoli di debole intensità accelerano modestamente l'attività vitale, di media intensità la incrementano, di forte intensità la bloccano in parte, di elevatissima intensità la sopprimono completamente".

Tra il 1920 e il 1930 le risposte bifasiche facevano parte della ricerca di base in tossicologia chimica e radiobiologia ed erano sostenute da grandi laboratori e grandi scienziati

Ma dagli anni '30 il concetto di ormesi diventa marginale e lo rimane fino al nuovo secolo.

La più importante ragione pratica del rifiuto del concetto dell'ormesi è dovuta al fatto che la tossicologia, nella sua fase storica, ha avuto maggiore interesse per gli effetti di alte dosi. L'impatto sulla salute si è evidenziato in seguito all'uso di notevoli quantità di contaminanti, sia prodotti dagli impianti industriali, sia dalla dismissione in ambiente di pesticidi, tossici anche per l'uomo.

Altre due questioni che contribuirono ad asciugare l'interesse per l'ormesi sono costituiti dal legame con l'omeopatia, malvista dalla medicina tradizionale, e dalla carenza di una leadership scientifica prestigiosa.

La storia dell'ormesi inizia circa 60 anni fa, ben prima di acquistare l'attuale nome, nel laboratorio del Prof. Hugo Schulz a Greifswald nella Germania settentrionale (Calabrese e Baldwin, 2000).

Schulz stava studiando il meccanismo con cui operava un farmaco per la gastroenterite e, poiché era stato appena determinato l'agente causale, un batterio, lo fece crescere esponendolo a diverse dosi dello stesso farmaco. Il farmaco non causò alcun effetto sul microrganismo, a nessuna dose: questo fece ipotizzare a Schulz che il farmaco agisse stimolando la risposta dell'organismo più che attaccando direttamente il microbo.

Seguirono altri studi che confermarono i primi dati, e Schulz che cominciava a interessarsi di omeopatia pose in stretta associazione teoria dell'ormesi e omeopatia. L'omeopatia non era ben vista e, nonostante il lavoro di Schulz venisse confermato da molti ricercatori, che rilevarono risposte bifasiche in organismi molto diversi, dai batteri alle piante, anche il concetto di ormesi venne considerato negativamente.

Tra coloro che avevano confermato le osservazioni di Schulz c'era anche

Ferdinand Hueppe, allievo di Koch, che considerava errato rigettare il concetto di ormesi perché associato all'omeopatia. Il concetto di bassa dose/stimolazione e alta dose/inibizione, per il prestigio di quest'ultimo sostenitore, prese il nome di *Hueppe's Rule* (regola di Hueppe).

Nel 1912 Grote e Schulz (Grote e Schulz, 1923) pubblicarono un libro sulle risposte bifasiche attribuendo parte della paternità al medico omeopata Rudolph Arndt, che aveva influenzato Schulz nello studio del processo ormetico, ribattezzando l'ormesi Legge di Arndt-Schulz (Calabrese e Baldwin, 2000).

Tra gli anni '20 e '30 del 1900 gli studi sugli effetti delle basse dosi coinvolsero molte università statunitensi (Calabrese e Baldwin, 2000) e europee: tra tutti ricordiamo le ricerche di Charles Richet, successivamente Premio Nobel per i suoi studi sull'anafilassi. A metà degli anni '30 il concetto di ormesi si era affermato e faceva parte delle linee di ricerca più importanti di numerosi e prestigiosi laboratori in cui si studiavano problematiche cliniche ma analoghi risultati si erano ottenuti dallo studio degli effetti delle radiazioni su numerosi organismi, come piante, funghi e insetti.

Ma alla fine degli anni '30 sia l'ormesi chimica sia quella da radiazioni divennero concetti marginalizzati, e l'ormesi fu vittima innocente di limitazioni teoriche, priorità sociali e carenza di leadership scientifica. Infatti, i risultati di stimolazione a basse dosi erano difficili da ottenere e replicare, i problemi sociali dovuti all'industrializzazione spostavano l'interesse verso gli effetti di alte dosi di contaminanti e nel campo dell'ormesi da radiazione le attese degli effetti benefici non erano state confermate (Calabrese e Baldwin, 2000) L'interesse per l'ormesi si ridusse e contemporaneamente cominciarono gli attacchi, come quello di A.J. Clark, nel 1937, che contestava ferocemente la legge di Arndt-Schulz nel suo *Handbook of Experimental Pharmacology* (Clark, 1937).

Per i successivi 60 anni l'ormesi ha avuto poche conferme, tra cui gli studi di Southam e Ehrlich (1937), che nel 1943 coniarono il nome di *ormesi* per definire gli effetti di estratti di *red cedar* su alcuni funghi degradatori del legno, che mostravano un'inusuale curva dose-risposta bifasica.

La prima vera riapertura di prospettive per il concetto di ormesi si è avuta negli anni '80 quando l'EPA accettò di applicare un modello di stima del rischio per le sostanze cancerogene o per i siti contaminati che rispondeva alla domanda "quanto bassa deve essere una dose per essere veramente non pericolosa oppure quanto pulito deve essere un sito per essere veramente pulito?" (Calabrese, 2002).

3. IL MECCANISMO ORMETICO

Il concetto di ‘effetto benefico’ all’interno del contesto di uno studio dose-risposta è difficile da determinare, a causa dell’evidente complessità biologica e del fatto che gli effetti benefici sono spesso riferiti ad uno scenario ben preciso: per esposizioni a basse dosi, ciò che a livello individuale può essere considerato positivo può invece essere nocivo a livello di popolazione, oppure il beneficio può essere notevolmente diverso qualora vengano presi in considerazione l’organismo ospite o quello parassita. La stessa bassa dose di chemioterapico, per esempio, potrebbe essere efficace *in vitro* sulla proliferazione di cloni cellulari per l’effetto inibitorio esercitato, mentre può risultare dannosa per un paziente, poiché potrebbe stimolare la crescita del tumore invece di sopprimerla. Analogamente, un antibiotico che consente la sopravvivenza del paziente perché battericida ad alta dose, a basse dosi potrebbe favorire la sopravvivenza del batterio tanto da danneggiare il paziente.

La caratterizzazione delle risposte ormetiche semplicemente sull’assunto di un beneficio a basse dosi è in realtà limitativa: i fenomeni sono complessi, le situazioni specifiche e molti sono gli aspetti che vanno presi in considerazione (Calabrese e Baldwin, 2002).

Ciò nondimeno non significa che caratterizzazioni di danno o beneficio non si possano fare.

La risposta ormetica può essere tanto indotta direttamente (DSH, *Direct Stimulation Hormesis*), quanto essere il risultato di processi biologici di compensazione, conseguenti ad un iniziale disordine nell’omeostasi (OCSH, *Over Compensation Stimulation Hormesis*). Partendo da quest’ultimo caso, qui di seguito saranno analizzati il significato e la rappresentatività dei due eventi.

1. *L’ormesi da stimolazione diretta* (DSH) è una risposta adattativa che si verifica mediante meccanismi diretti (*biopositivi*). L’azione iniziale che genera una risposta ormetica a stimolazione diretta non è conseguenza di un disturbo dell’omeostasi, ma una risposta adattativa che agisce nell’ambito del normale mantenimento delle funzioni, che consente escursioni metaboliche del doppio range di fondo. Vengono utilizzate minori risorse rispetto all’ormesi da sovracompensazione finché non si ha un danno evidente da riparare o uno squilibrio a cui far fronte; esso rappresenta un tipo di risposta adattativa *steady-state* che riflette normali dinamiche fisiologiche stimolatorie (Calabrese e Baldwin, 2002).

I sistemi fisiologici e gli endpoint misurati con la DSH sono spesso gli stessi degli esperimenti in cui viene valutata l’OCSH. Inoltre, la mancanza di indicazioni temporali, nella maggior parte degli studi, preclude una specifica differenziazione e viene qui presentata come evento possibile sebbene non ancora dimostrato.

2. *L’ormesi da sovracompensazione* (OCSH) è una risposta adattativa a bas-

si livelli di stress o di danno che producono un aumento di risposta di alcuni sistemi fisiologici per un tempo definito, oppure, in specifiche circostanze ben delineate (per esempio, la crescita di una colonia batterica in particolari condizioni e con certi tossici), indefinitamente. Tutto ciò è il risultato di una modesta sovracompensazione, appunto, dovuta a una variazione dell'omeostasi. Le caratteristiche concettuali chiave dell'OCSH sono lo scompensamento dell'omeostasi, la modesta sovracompensazione, il seguente ripristino dell'omeostasi e la natura adattativa del processo.

La variazione omeostatica, nel fenomeno dell'ormesi, non è limitata alle alterazioni a tossicità acuta in cui predominano cambiamenti macromolecolari, ma potrebbe essere l'effetto cumulativo di tutti quei fenomeni che vanno dalle risposte generali allo stress, fino ai cambiamenti che includono limitati danni macromolecolari.

Il comportamento di modesta sovracompensazione del processo, che porta all'espressione dell'ormesi, è essenziale perché collega funzionalmente le risposte ormetiche all'omeostasi stabilendo il fondamento teorico per una generalizzazione più vasta dei fenomeni ormetici. La modesta sovracompensazione potrebbe rappresentare la migliore risposta possibile in quel momento, una sorta di polizza d'assicurazione biologica strutturale dell'organismo. Questo concetto implica un continuo *feedback* di messaggi tra lo stato fisiologico e i meccanismi di regolazione e compensazione, fino a che non si ristabilisce la condizione omeostatica: l'efficienza nel ristabilire l'omeostasi richiede che le risorse siano correttamente allocate.

Le risposte compensative devono essere quantitativamente collegate all'estensione del danno incorso: l'entità della risposta/riparazione corrisponde all'ampiezza del danno, con sufficienti, ma non eccessive, risorse biologiche allocate per assicurare che la funzione riparativa venga completata.

L'ormesi rappresenta il vantaggio ottenuto dall'individuo attraverso le risorse inizialmente e principalmente allocate per attività di riparazione, ma in modesto eccesso rispetto a ciò che serve per la riparazione immediata del danno. Questo processo può anche preparare l'organismo a rispondere a danni derivanti da successive esposizioni di maggiore entità, per periodi di tempo limitato.

La limitata sovracompensazione può soddisfare due funzioni: assicura che la riparazione sia effettuata adeguatamente e in maniera tempestiva, e che vi sia protezione contro insulti successivi e anche più pesanti. Il valore di quest'ultima funzione è generalmente valutato negli studi tossicologici della risposta adattativa in ambito chimico e radioattivo. In queste situazioni, una bassa dose somministrata prima di un dosaggio più elevato e pericoloso dello stesso agente, spesso riduce l'effetto tossico della successiva maggiore esposizione. Tuttavia, nel caso in cui non si verifichi un'ulteriore esposizione, l'impiego sovrastimato delle risorse contro il danno iniziale (come in una risposta per sovracompensazione)

può essere utilizzato per altre funzioni utili (ad esempio, contribuire ad una crescita vegetativa addizionale). Questo, insomma, è ciò che viene misurato tipicamente negli studi che valutano l'ormesi.

L'ormesi è la tecnica di allocare una certa quantità di risorse extra per assicurare il ristabilirsi delle condizioni di omeostasi, ed è adottata da moltissime specie. Nonostante questa strategia adattativa comune, i vari sistemi biologici hanno sviluppato differenti approcci specifici per ottenere la risposta di compensazione, a seconda dell'importanza della funzione che necessita il ripristino, della disponibilità delle risorse, così come del grado di ridondanza biologica dei sistemi. Questo è analogo al caso di altre strategie adattative, quali i processi enzimatici di detossificazione/escrezione di xenobiotici, in cui probabilmente tutte le specie seguono la norma generale di convertire le sostanze lipofile in metaboliti più idrofili, ma possono usare diverse strategie specifiche per raggiungere lo stesso risultato.

Perciò il processo di selezione naturale delle strategie ormetiche all'interno dell'ampia varietà delle specie biologiche pare seguire un intento generale e simile per tutti, attraverso specifiche strategie che dipendono dalle caratteristiche delle varie specie.

Insomma, la curva dose-risposta ormetica nelle diverse specie suggerisce un elevato grado di conservazione, da cui si può ipotizzare che abbia una base genetica.

4. LA GAMMA DI RISPOSTE ORMETICHE

4.1 Agenti fisici

ORMESI E RADIAZIONI

Anche per le radiazioni ionizzanti è stata riscontrata risposta ormetica. Gli effetti delle radiazioni ionizzanti sono classificati in deterministici e stocastici. Mentre per gli effetti deterministici, cioè i cosiddetti effetti a soglia, possiamo porre in atto i corretti principi di radioprotezione, per quelli stocastici, cioè casuali non legati alla dose, gli studi sono più contraddittori. Indagini radiobiologiche hanno evidenziato che la comunicazione cellulare provoca effetti apparentemente incompatibili; cellule non irraggiate sono danneggiate da cellule vicine colpite dalle radiazioni (effetto *bystander*); una bassa dose incrementa la radioresistenza di cellule e tessuti a dosi più elevate (effetto ormetico o risposta adattativa).

L'ormesi si può definire, in questo caso, come la capacità da parte di cellule e tessuti di sviluppare una radioresistenza a dosi di una certa intensità, dopo aver subito l'esposizione a basse dosi.

A supporto di tale fenomeno sono stati elaborati vari studi, uno recente ad opera di ricercatori di Taiwan, Chen W.L. e collaboratori (2004). Nella città di Taipei si è verificata un'esposizione accidentale dovuta a raggi gamma da ⁶⁰Co (Cobalto 60). Tale sorgente è stata inconsapevolmente fusa nell'acciaio col quale furono edificati, negli anni ottanta, alcuni palazzi e una scuola.

Nel luglio 1992 si sono riscontrate le prime manifestazioni patologiche, che hanno portato all'allontanamento dalla sorgente. L'esposizione degli abitanti e dei frequentatori della scuola è stata stimata in ~ 4000 Sv / persona¹.

I controlli medici periodici hanno dimostrato che:

- il numero di aberrazioni cromosomiche non è stato né significativo, né in rapporto alla dose assorbita;
- la mortalità per tumore è risultata solo del 3% superiore a quella del resto della popolazione;
- sono nati con malformazioni congenite tre bambini.

La conclusione di Chen e collaboratori è che solo il fenomeno dell'ormesi può spiegare gli eventi manifestatisi, intesi come l'effetto positivo dopo l'esposizione cronica a basse dosi di radiazioni ionizzanti. Proprio rifacendosi a questo studio gli autori hanno richiesto un'accurata revisione dell'i-

¹ Il sievert (indicato con il simbolo Sv) è l'unità di misura della "dose efficace", grandezza in cui si combinano l'energia assorbita dai diversi organi o tessuti colpiti dalle radiazioni ionizzanti e alcuni fattori che tengono conto della pericolosità dello specifico tipo di radiazione e della sensibilità di ciascuno degli organi o tessuti. Vengono molto spesso impiegati i suoi sottomultipli, il μ Sv (un milionesimo di Sievert) e il nSv (un miliardesimo di sievert).

potesi lineare senza soglia (LNT).

Da molto gli esperti internazionali discutono sull'ipotesi lineare senza soglia. In attesa di chiarire questa problematica, ben vengano anche questi studi basati sull'osservazione di fenomeni accidentali dove la spiegazione ormetica ha la sua dignità di collocazione.

4.2 Agenti chimici

In natura, esistono un gran numero di risposte ben conosciute che appaiono essere ormetiche: gli antibiotici eritromicina e streptomina promuovono la crescita batterica a basse dosi; la diossina può rallentare lo sviluppo tumorale nei ratti a concentrazioni basse invece di esserne l'agente causativo; la somministrazione del peptide β -amiloide, che si ritiene essere responsabile del morbo di Alzheimer, sembra avere un effetto protettivo contro la malattia a basse dosi (Butler, 2004).

Vi sono moltissimi studi che danno conferma sperimentale dell'ormesi, mostrando curve a parabola invertita in diversi modelli sperimentali e per i più svariati agenti chimici. Se ne possono ricordare alcuni esempi:

- A. mercurio ed attività catalasica in *Lemna minor* e *Allium cepa* (Subhadra *et al.*, 1991);
- B. rame e dimensione delle colonie di *Laomedea flexuosa* (Stebbing, 1997);
- C. metanolo e longevità in *Drosophila acher* (Jefferson e Aguirre, 1980);
- D. raggi γ ed incidenza di malattia nei topi (Maisin *et al.*, 1988);
- E. raggi γ e sviluppo di neoplasie nei topi (Ullrich e Storer, 1979);
- F. cadmio e cellule ovariche cancerose umane (Abe *et al.*, 1999);
- G. fluoridone e deposizioni di invertebrati acquatici e pesci (Hamelink, 1986);
- H. cicloesimmide e apoptosi di linfociti B (Lemaire *et al.*, 1999);
- I. arsenico e sintesi di linfociti umani (Meng, 1993).

5. L'INCIDENZA DELL'ORMESI

Sebbene il modello dose risposta cosiddetto “a soglia” sia diffusamente considerato il modello dominante in tossicologia, in realtà numerosi studi dimostrano che il modello della risposta ormetica bifasica sia predominante (Calabrese e Baldwin, 2003).

Nelle diverse migliaia di esempi esaminati, il range di stimolazione rilevato è più basso del NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*):

- 20 volte in circa il 70% dei campioni;
- 100 volte in circa il 25% dei campioni.

Solo il 2% era maggiore di 1000 volte. Il massimo di risposta stimolatoria è nell'ordine del 130-160% del controllo. Dunque il modello ormetico è più comune di quello a soglia in tossicologia.

Le relazioni ormetiche dose-risposta si riscontrano in organismi femminili e maschili di numerosi modelli animali in tutti i gruppi principali e delle più differenti specie, dimostrando una vasta gamma di differenti suscettibilità a moltissimi agenti tossici. I modelli biologici includono piante, virus, batteri, funghi, insetti, pesci, uccelli, roditori e primati, incluso l'uomo. Anche lo spettro degli endpoint che mostrano risposta ormetica è ampio, e include crescita, longevità, numerosi parametri metabolici, incidenza di malattia (incluso il cancro), alterazioni del rendimento (funzioni cognitive e risposte immunitarie fra le altre). Le caratteristiche quantitative della risposta alla dose ormetica rivelano che la larga maggioranza dei casi mostra un massimo di risposta stimolatoria inferiore del doppio e maggiore rispetto al controllo, mentre l'ampiezza della risposta stimolatoria è tipicamente inferiore di 100 volte nel range di dosi immediatamente vicine al NOAEL tossicologico (Calabrese e Blain, 2005).

Al fine di valutare la quantità di studi soddisfacenti i criteri della teoria dell'ormesi sono stati creati due database costruiti sull'incidenza di tali studi nella letteratura scientifica tossicologica, ciascuno con propri criteri d'ingresso.

Uno di questi esamina circa 21000 articoli provenienti da tre riviste a partire dagli anni '60 ed evidenzia che il criterio ormetico è rispettato in circa il 40% degli esaminati. Il criterio fondamentale utilizzato per la classificazione è l'aderenza alla curva ad U, tal quale o invertita, relativa alla relazione dose-risposta ormetica. In sostanza, tutti gli studi hanno avuto necessità di dimostrare con prove sufficienti il fatto dell'inibizione ad alte dosi basata su criteri statistici e/o quantitativi, come il NOAEL, e dosi sotto il NOAEL che debbono essere valutate per il potenziale di una risposta stimolatoria a basse dosi basata su criteri statistici e/o quantitativi (Calabrese e Baldwin, 2001b).

Su 1089 dosi al di sotto del NOAEL, il 19.4% soddisfa i criteri valutativi di significatività statistica o distribuzione dei dati, l'80% non differisce dal controllo e lo 0.6% mostra valori falsi-positivi. Il fatto che la risposta or-

metica sia 32.5 volte maggiore rispetto ad una risposta della stessa intensità ma in direzione opposta, supporta con forza l'ipotesi che la risposta ormetica non sia affatto random. Lo studio evidenzia che, avendo un progetto che soddisfi dei criteri stabiliti a priori (ad esempio, un NOAEL ben definito, maggiore o uguale a due dosi sotto il NOAEL, e l'endpoint misurato che ha la capacità di evidenziare sia le risposte stimolatorie che quelle inibitorie), l'ormesi si incontra molto frequentemente ed è diffusamente rappresentata in accordo con l'agente, il modello e l'endpoint.

In un successivo studio del 2003, Calabrese e Balwin hanno valutato circa 1800 dosi al di sotto del NOAEL, derivanti da 664 relazioni dose-risposta e provenienti da un precedente database che soddisfaceva precisi criteri d'ingresso. Mentre il modello a soglia dà previsione di un rapporto 1:1 di risposte A/B = Above/Below (cioè al di sopra e al di sotto del valore del controllo), è stato osservato un rapporto 2.5:1, che sta a rappresentare il 31% in più di risposte maggiori del controllo rispetto a quanto ci si aspettasse.

Questi risultati cambiano la radicata opinione della superiorità del modello "a soglia" in tossicologia (ed altre aree della biologia che coinvolgono relazioni dose-risposta) e contribuiscono a dare un forte supporto al modello di risposta ormetica bifasica, caratterizzato da una stimolazione alle basse dosi e da un'inibizione alle alte. Inoltre, vengono coinvolti aspetti della ricerca tossicologica e biologica/biomedica relativi alle relazioni dose-risposta, inclusi progetti di studio, risk assessment, così come strategie chemioterapiche (Calabrese e Baldwin, 2003).

Il più recente studio del 2005 invece si basa su un diverso tipo di database, complementare al precedente, che non prende più in considerazione la frequenza della risposta ormetica ed è basato su differenti criteri "d'ingresso" dei dati scrinati.

I dati mostrano che il massimo della risposta stimolatoria è in genere approssimativamente 30-60% maggiore del controllo con circa l'80% del massimo delle risposte che è inferiore al doppio (TWO-FOLD) e maggiore del controllo. All'incirca il 90% delle relazioni dose-risposta mostra un'ampiezza stimolatoria che è di 100 volte inferiore al range di dosi immediatamente al di sotto del NOAEL. Tali caratteristiche sono biologicamente significative dal momento che si verificano indipendentemente dal modello biologico, dall'endpoint e dalla classe chimico-fisica dell'agente (Calabrese e Blain, 2005).

L'ampiezza del range di stimolazione, che è tipicamente piuttosto stretto (ad esempio, un fattore 10 inferiore al NOAEL), può anche essere estesa bene oltre il range di 1000 volte (1000-fold range) a seconda delle condizioni sperimentali. Una possibile spiegazione di tale fenomeno può essere relativa all'eterogeneità della popolazione studiata: quanto più è eterogenea la popolazione tanto più è ristretto il range della risposta stimolatoria (Calabrese e Blain, 2005).

Concludendo, si può ragionevolmente affermare che:

- l'ormesi dà conto di una "tossicità mascherata" che varia con la dose;
- la probabilità di osservare una risposta migliore del controllo, nella zona ottimale di risposta ormetica, è inversamente proporzionale alla dose;
- è possibile che la tossicità mascherata e l'effetto ormetico siano significativamente sottostimati per mancanza di dati al di sotto del valore del controllo: questo spiegherebbe anche perché si è affermato l'effetto a soglia.

6. MODELLI IN TOSSICOLOGIA E ECOTOSSICOLOGIA

I modelli dose-risposta sono lineare, “a soglia” e ormetico.

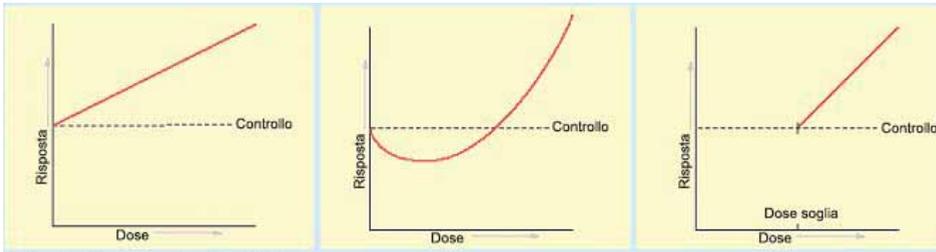


Figura 2. Modelli di risposta: lineare, ormetico, a soglia (Butler, 2004)

Il modello “a soglia” e quello ormetico hanno in comune la risposta ad alte dosi, mentre a basse dosi l’effetto ormetico dovrebbe causare l’effetto opposto e non proporzionale a quello osservato ad alte dosi.

Tanto per l’ecotossicologia quanto per l’Ecological Risk Assessment (ERA) l’introduzione del fenomeno dell’ormesi comporterebbe cambiamenti radicali. L’esplicito riconoscimento dell’ormesi deve essere basato su indagini molto approfondite sugli effetti dell’introduzione di stressori chimici nei comparti abiotici e/o biotici, nonché sulla determinazione per ciascuno degli stressori della risposta ormetica mediante modelli di organismi, popolazioni e comunità (Chapman, 2001).

Sulla base delle conoscenze attuali, è verosimile che l’ormesi avrà un impatto maggiore sull’ecotossicologia; due appaiono essere i più importanti “spostamenti di ottica”: il riconoscimento della necessità di uno speciale e più attento trattamento, in fase sperimentale, della curva dose-risposta e l’identificazione di una NOEC (*No Observed Effect Concentration*) che tenga conto della “tossicità mascherata” dell’ormesi.

Accettare l’ormesi nelle problematiche ambientali potrebbe avere enormi conseguenze sotto molti punti di vista, non ultimo quello economico.

Le spese effettuate normalmente per ridurre le esposizioni al fine di preservare la salute pubblica sono basate sull’assunto che il modello “a soglia” sia accurato: sulla base di una risposta ormetica, molti dei costosi processi utilizzati per ridurre la contaminazione ambientale potrebbero essere limitati a livelli che non assicurano un’effettiva protezione dei sistemi naturali, che potrebbero essere addirittura controproducenti ma che più spesso sarebbero inutili (Butler, 2004).

Tuttavia, allo stato attuale appare alquanto rischioso applicare le teorie dell’ormesi senza ulteriori approfondimenti; in un campo così complesso, ricco di variabili quale quello ambientale, un apparente beneficio potrebbe rivelarsi un danno.

Infatti, il problema di valutare correttamente l’ormesi, per giungere alla sti-

ma della giusta dose che tenga conto anche della tossicità mascherata dalla risposta ormetica a basse dosi, sembra essere molto difficile non solo dal punto di vista metodologico (Rodricks, 2003), ma anche da quello economico e di valutazione generale, poiché ciò che è benefico per un organismo può non esserlo affatto per un altro.

7. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Se l'ormesi fosse dimostrata come generale e inequivocabile, i modelli di stima del rischio lineari potrebbero essere *bypassati*. Tuttavia, accreditare la risposta ormetica è difficile.

Tossicologia ed ecotossicologia sono strettamente connesse alle attività di agenzie governative nazionali e internazionali, che basano i controlli su normative precise e limiti tabellari ben definiti, che dovrebbero essere profondamente modificati a seguito dei nuovi studi, inclusa la rimozione del concetto di soglia nelle procedure di *risk assessment*.

Allo stato attuale l'ormesi non viene ancora considerata un fenomeno generalizzabile e la sua determinazione presuppone un disegno sperimentale complesso, e di difficile rilevazione, visto che la stimolazione ottenuta è modesta.

Insomma, sebbene l'ormesi influenzi profondamente molte aree biologiche ed ecologiche, ciò non viene ancora riconosciuto.

Il riconoscimento della risposta bifasica non potrà che comportare significativi miglioramenti nei metodi di ricerca in tossicologia, nelle procedure di *risk assessment*, ma anche nei metodi di chemioterapia, nello sviluppo dei farmaci oltre a chiarire processi fondamentali della vita.

Il consolidamento della base conoscitiva dell'ormesi porterà profonde modifiche in molte scienze, una vera rivoluzione dose-risposta, che, come un'onda di marea, modificherà percezioni, principi ed attività tossicologiche e ecotossicologiche.

BIBLIOGRAFIA

Abe T., Gotoh S., Higashik. 1999, "Attenuation by glutathione of **hasp72** gene expression induced by cadmium in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells", *Biochem. Pharmacol.*, Vol. 58, pp. 69-76.

Butler R., 2004, "When toxic turns to treatment", *Chemistry and Industry*, pp. 10-11.

Calabrese E.J., 2002, "Hormesis: changing view of the dose-response, a personal account of the history and current status", *Mutation Research*, Vol. 511, pp. 181-189.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2000a, "Chemical hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis", *Hum. Exp. Toxicol.*, Vol. 19 (1), pp. 2-31.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2000b, "The marginalization of hormesis", *Hum. Exp. Toxicol.*, Vol. 19 (1), pp. 32-40.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2000c, "Radiation hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis", *Hum. Exp. Toxicol.*, Vol. 19 (1), pp. 41-75.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2000d, "Radiation hormesis: the demise of a legitimate hypothesis", *Hum. Exp. Toxicol.*, Vol. 19 (1), pp. 76-84.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2000e, "Tales of two similar hypotheses: the rise and fall of chemical and radiation hormesis", *Hum. Exp. Toxicol.*, Vol. 19 (1), pp. 85-97.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2001a, "Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology", *Trends in Pharmacological Sciences*, Vol. 22 (6), pp. 285-291.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2001b, "The frequency of U-Shaped dose responses in toxicological literature", *Toxicological Sciences*, Vol. 62, pp. 330-338.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2002, "Defining hormesis", *Human and Experimental Toxicology*, Vol. 21, pp. 91-97.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2003, "The hormetic dose-response model is more common than the threshold model in toxicology", *Toxicological Sciences*, Vol. 71, pp. 246-250.

Calabrese E.J., Blain R., 2005, “The occurrence of hormetic responses in toxicological literature, the hormesis database: an overview”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, Vol. 202, pp. 289-301.

Chapman P.M., 2001, “The implication of hormesis to ecotoxicology and ecological risk assessment”, *Human and Experimental Toxicology*, Vol. 20 (10), pp. 499-505.

Chen W.L., Luan Y.C., Shieh M.C., Chen S.T., Kung H.T., Yeh Y.C., Chou T.S., Mong S.H., Wu J.T., Sun C.P., Derg W.P., Wu M.F., Shen M.L., 2004, “Is chronic radiation an effective prophylaxis against cancer?”, *J. Am. Phys. And Surg.*, IX, Vol. 1, pp. 6-10.

Clark A.J., 1937, “Handbook of Experimental Pharmacology”, *Springer*, Berlin.

Hamelink J.L., 1986, “Toxicity of fluoridone to aquatic invertebrates and fish”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 5, pp. 87-94.

Grote L.R., Schulz H., 1923, “Die Medizin Der Gegenwart In Selbstdarstellungen (Contemporary Medicine as Presented by its Practitioners Themselves)”, *NIH-98-134* (Ted Crump, Trans.), pp. 217-250.

International Commission on Radiological Protection, 1990, “Recommendations of the International Commission on Radiological Protection”, Publication n.60, *Annals of ICRP*, vol.21 (1-3), Oxford, Pergamon Press 1991.

Jefferson M.C., Aguirre M., 1980, “Methanol tolerances and the effects of methanol on longevity and ovoposition behaviour in *Drosophila pachea*”, *Physiol. Entomol.*, Vol. 5, pp. 265-269.

Lemaire C., Andreau K., Sauvannavong V., Adam A., 1999, “Specific dual effect of cycloheximide on B lymphocyte apoptosis: involvement of CPP32/caspase-3”, *Biochem Pharmacol.*, Vol. 58 I, pp. 85-93.

Maisin J.R., Wambersie A., Gerber G.B., Mattelin G., Lambiet-Collier M., 1988, “Life-shortening and disease incidence in C57B1 mice after single and fractionated gamma and high-energy neutron exposure”, *Radiation Research*, Vol.113, pp. 300-317.

Meng G., 1993, “Effects of arsenic on DNA synthesis in human lymphocytes”, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, Vol. 25, pp. 525-528.

National Research Council, “Health effect to exposure of radon” BEIR VI, NRC, *National Academic Press*, 1999.

Rodricks J.V., 2003, “Toxicological Highlight: Hormesis and Toxicological Risk Assessment”, *Toxicological Sciences*, Vol. 71, pp. 134-136.

Stebbing A. R. D., September 1997, “A Theory for Growth Hormesis”, *BELLE Newsletter*, Vol. 6 (1).

Southam C.M., Ehrlich J., 1943, “Effects of extracts of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture”, *Phytopathology*, Vol. 33, pp. 517–524.

Subhadra A.V., Nanda A.K., Bahera P.K., Panda B.P., 1991, “Acceleration of catalase and peroxidase activities in *Lemna minor* L. and *Allium cepa* L. in responses to low levels of aquatic mercury”, *Environmental Pollution*, Vol. 69, pp.169-179.

Ullrich R.L., Storer J.B., 1979, “Influence of irradiation on the development of neoplastic disease in mice”, *Radiation Research*, Vol. 80, pp. 317-324.

United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR), 2000, “Sources and effects of ionising radiation, 2000 Report to the General Assembly, with Annexes”, New York, United Nations.

