

Studio della funzionalità biologica nei monociti derivati da cellule HL60 esposte ai LNGS, a un basso fondo di radiazione ambientale. Il progetto ECLIPSE



V. Dini^{1,2}, D. Di Chio^{2,3}, V. Tirelli^{2,4}, F. Grasso^{2,4}, S. Cecchetti^{2,4}, R. La Valle⁵, G. Esposito^{1,2}, P. Anello^{1,2}, F. Berardinelli^{3,6}, V. Conte⁷, P. Morciano^{8,9}, G. Baiocco^{10,11}, A. Sgura^{3,6}

¹ Istituto Superiore di Sanità, Centro Nazionale Intelligenza Artificiale e Tecnologie Innovative per la Salute, Roma; ² INFN, Sezione Roma1; ³ Università degli Studi Roma Tre, Dipartimento di Scienze, Roma; ⁴ Istituto Superiore di Sanità, Servizio Tecnico Scientifico Grandi Strumentazioni e Core Facilities, Roma; ⁵ Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Malattie Infettive, Roma; ⁶ INFN, Sezione Roma3; ⁷ INFN Laboratori Nazionali di Legnaro, Padova; ⁸ Dipartimento di Medicina clinica, Università degli Studi dell'Aquila, Aquila; ⁹ INFN Laboratori Nazionali del Gran Sasso; ¹⁰ Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Fisica, Pavia; ¹¹ INFN, sezione di Pavia

CONTESTO E RAZIONALE

Basse dosi e bassi ratei di dose

La stima del rischio associato all'esposizione a basse dosi e bassi ratei di dose di radiazioni ionizzanti si basa prevalentemente sul modello **Linear No Threshold (LNT)**, che assume una relazione lineare tra dose e rischio anche alle basse dosi. Tuttavia, numerosi studi radiobiologici hanno evidenziato che, al di sotto di **100 mSv** e/o a ratei di dose inferiori a **0,1 mSv/min**, le risposte cellulari possono essere complesse e non lineari.

Rilevanza per la radioprotezione

La comprensione degli effetti biologici associati alle esposizioni croniche a bassissime dosi e bassi ratei di dose rappresenta un elemento rilevante per la valutazione del rischio radiologico. Lo studio di sistemi biologici esposti a un fondo naturale fortemente ridotto presso laboratori sotterranei offre un approccio sperimentale complementare allo studio degli effetti delle radiazioni a basse dosi.

UNA DOMANDA ANCORA APERTA

QUALI SONO GLI EFFETTI BIOLOGICI INDOTTI DALLA RIDUZIONE CRONICA DEL FONDO NATURALE DI RADIAZIONE?

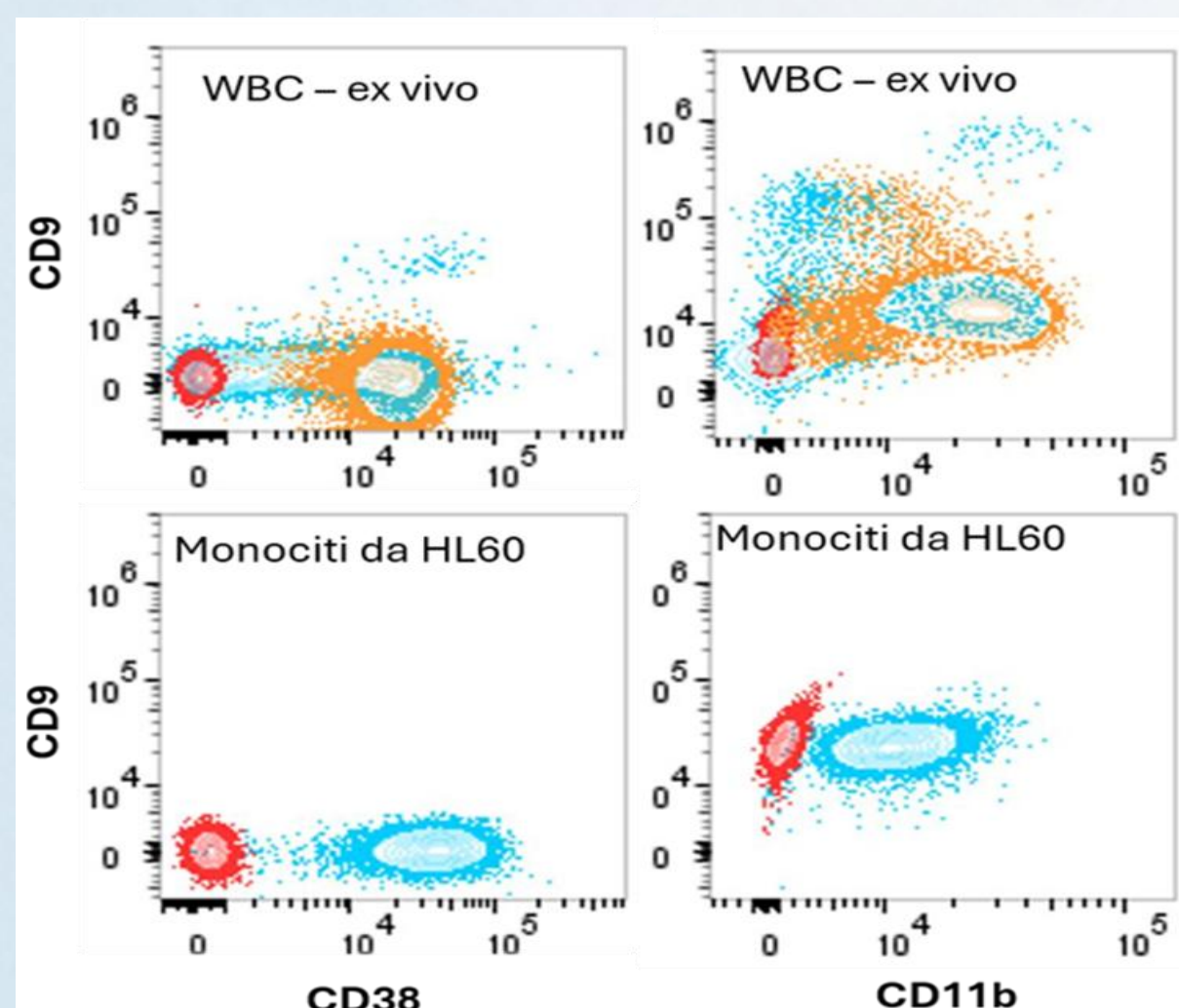
I **Laboratori Nazionali del Gran Sasso (LNGS)** costituiscono un ambiente sperimentale unico per affrontare questa domanda, in quanto la roccia sovrastante scherma la componente cosmica e neutronica riducendo il fondo naturale di radiazione.

OBIETTIVO

Valutare se l'esposizione cronica a un ridotto fondo naturale di radiazione moduli la risposta funzionale delle cellule del sistema immunitario innato.

- Modello sperimentale:** HL60 → monociti
- Esposizione:** fondo naturale vs ridotto fondo naturale
- Tempi:** 7, 15 e 30 giorni
- Stimolo:** E. coli per differenti intervalli di tempo
- Endpoint:** produzione intracellulare di specie reattive dell'ossigeno (ROS).

Verifica del differenziamento cellulare



Il differenziamento delle HL60 in monociti è stato indotto mediante trattamento con 10 nM della forma attiva della vitamina D3 e valutato mediante citofluorimetria, analizzando l'espressione di un *panel* di 16 *marker* (CD) sia nelle cellule del sangue periferico (*WBC ex vivo*) sia nei monociti. Le HL60 differenziate hanno acquisito l'espressione dei principali *marker* monocitari, evidenziando una parziale sovrapposizione fenotipica con le cellule monocitarie *ex vivo*.

FIG 1: Confronto del profilo immunofenotipico tra monociti derivati da HL60 e monociti *ex vivo*. I dot plot mostrano l'espressione dei marker CD9, CD38 e CD11b

DISEGNO SPERIMENTALE

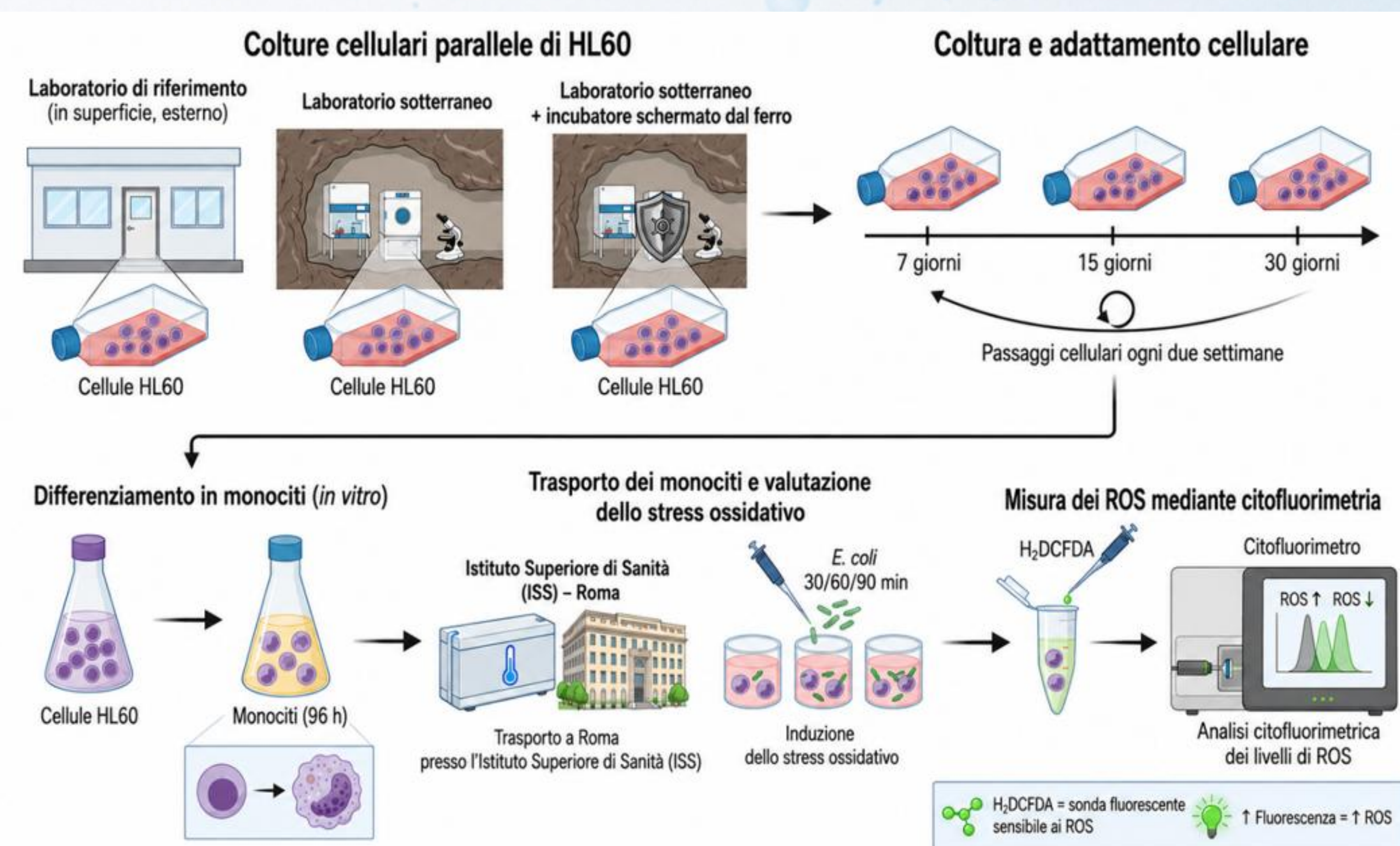
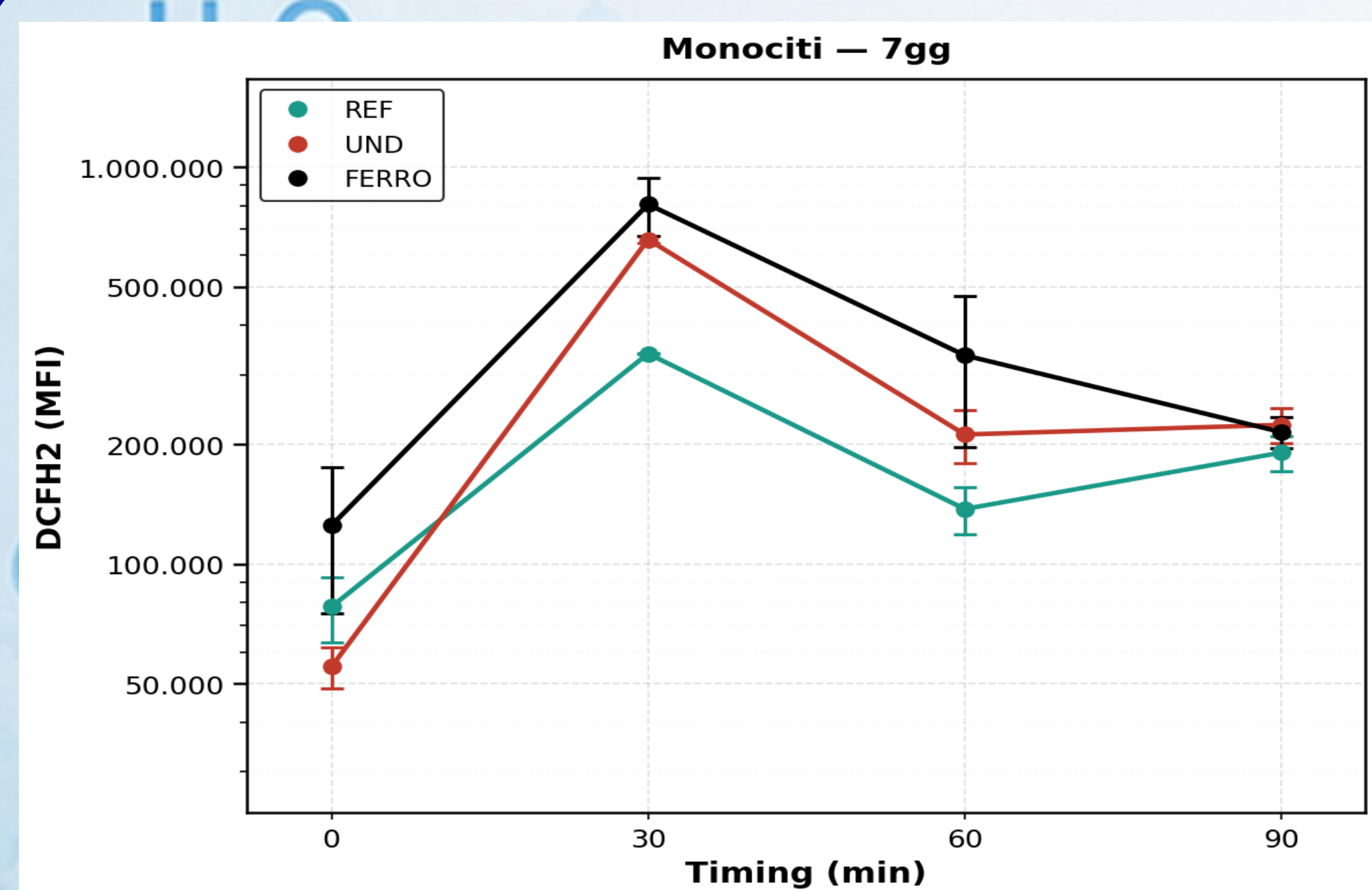


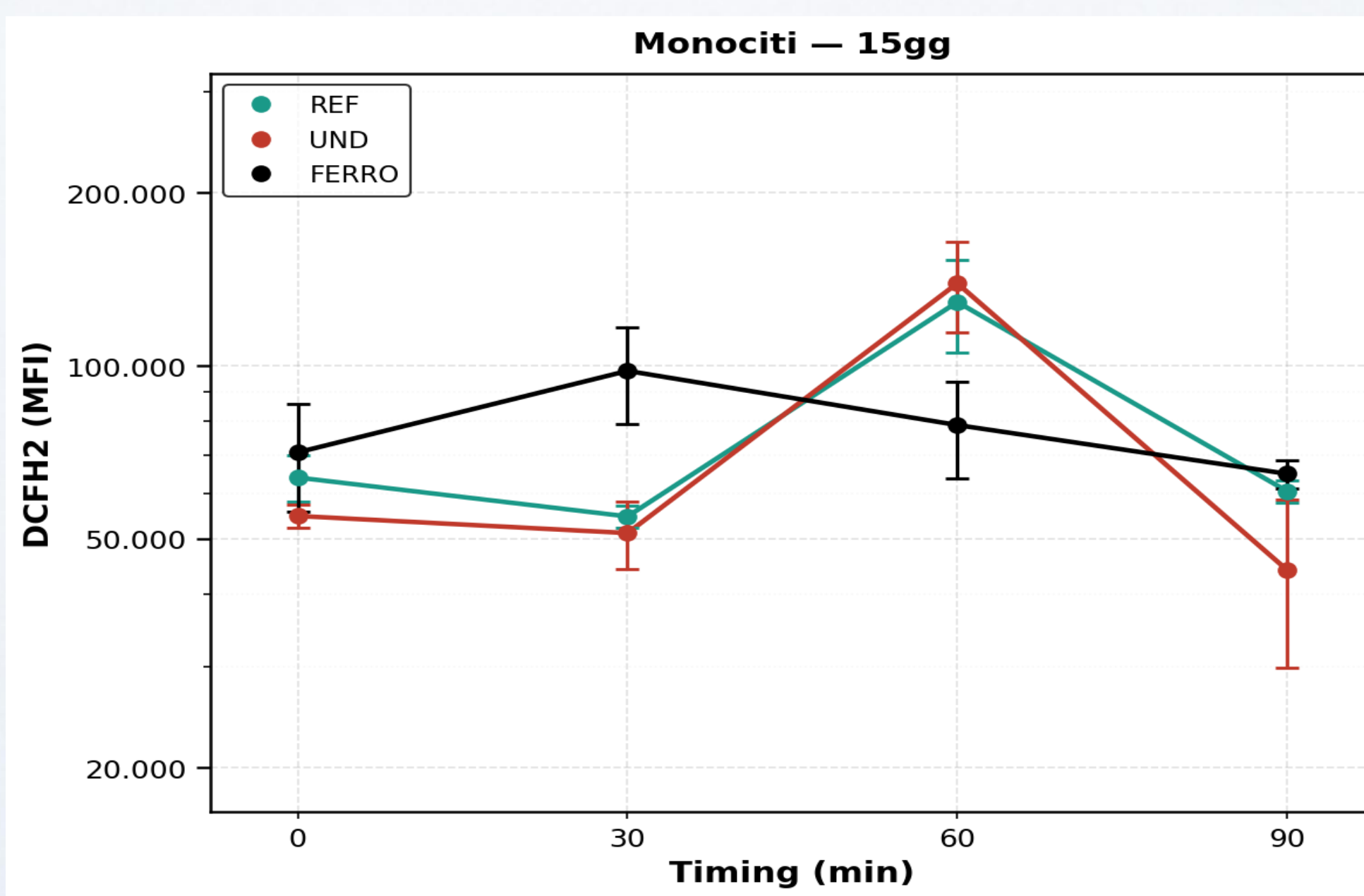
FIG 2: Disegno sperimentale con il dettaglio dei vari passaggi procedurali sperimentali

RISULTATI



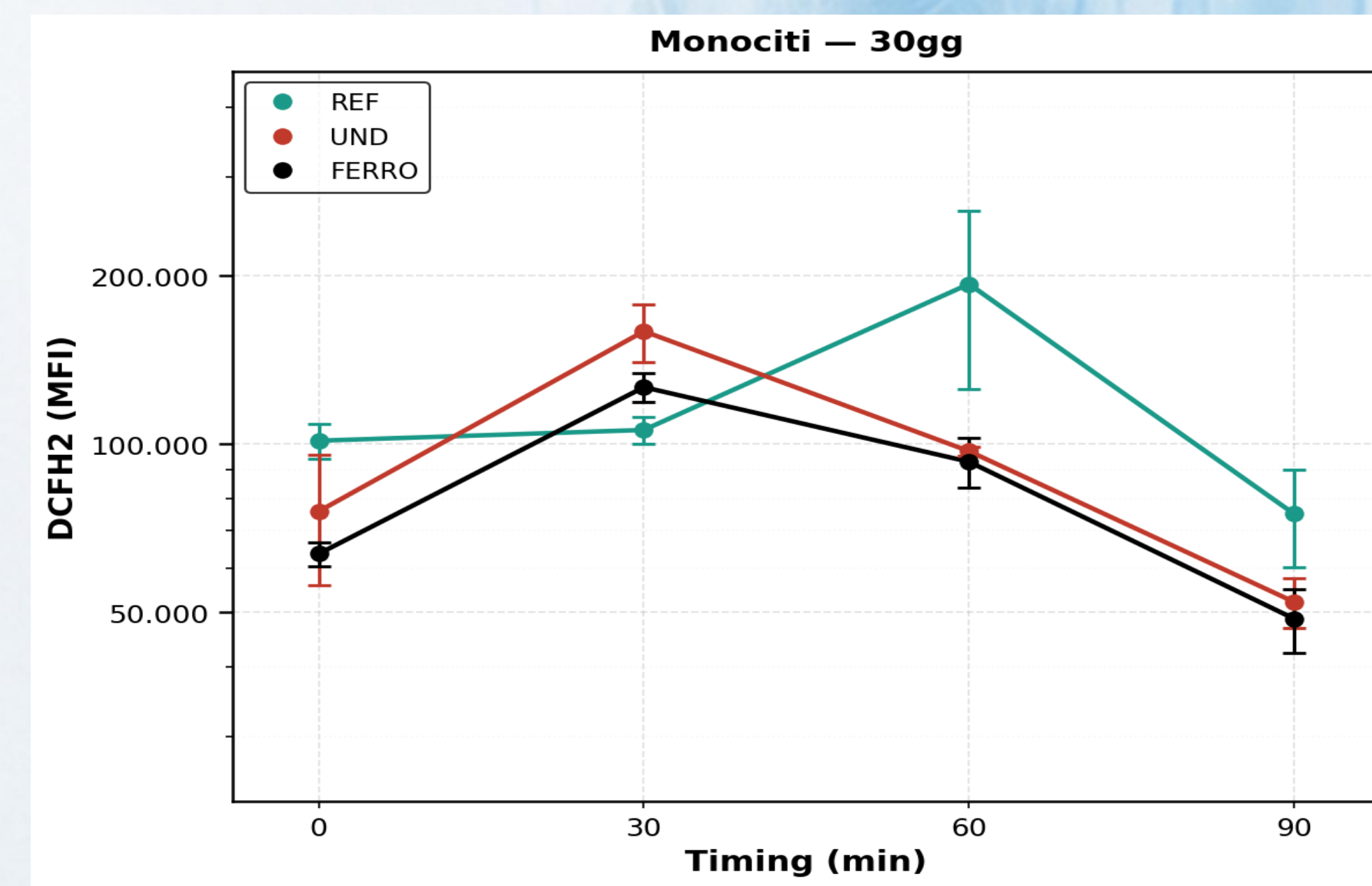
Picco precoce e massima intensità

Tutte le condizioni mostrano un **picco** di ROS a **30 minuti** seguito da un progressivo decremento fino a 90 minuti. La condizione **FERRO** mostra i livelli più elevati di stress ossidativo seguita da **UND**. Il gruppo di riferimento **REF** mostra la risposta più attenuata.



Shift cinetico e sfasamento temporale

Si osserva una **netta riduzione** dell'ampiezza massima del segnale e uno **sfasamento dei picchi**: la condizione **FERRO** mostra un picco precoce ma smorzato a **30 minuti**, mentre le condizioni **REF** e **UND** mostrano un picco ritardato a **60 minuti** con livelli di ROS superiori rispetto alla condizione FERRO.



Risposta differenziata a lungo termine

La **cinetica** appare **disaccoppiata**: le condizioni **UND** e **FERRO** mantengono un profilo sovrapponibile, con un picco a **30 minuti** mimando l'andamento a 7 giorni, sebbene con intensità molto ridotta. La condizione **REF** invece mantiene il picco a **60 minuti**, con una intensità quasi raddoppiata.

CONCLUSIONI

I dati preliminari del **progetto ECLIPSE** evidenziano che l'esposizione cronica a un **ridotto fondo naturale di radiazione** influenza la risposta biologica dei monociti:

- Modulazione Funzionale:** l'ambiente a basso fondo di radiazione modula la funzionalità dei **monociti** derivati da cellule HL-60.
- Dinamica Temporale:** gli effetti osservati mostrano una chiara dipendenza dal **tempo di coltura** (7 vs 15 vs 30 gg), suggerendo l'attivazione di meccanismi cellulari di **adattamento e regolazione** nel lungo termine
- Risposta Immunitaria Innata:** la marcata alterazione nella produzione di **ROS in risposta a E. coli** suggerisce che il fondo naturale di radiazione giochi un ruolo attivo nella modulazione dei meccanismi di difesa immunitaria precoce.

TAKE-HOME MESSAGE

Il fondo naturale di radiazione potrebbe rappresentare un modulatore della risposta biologica delle cellule dell'immunità innata.

I risultati ottenuti ai LNGS evidenziano una possibile relazione tra **riduzione del fondo di radiazione, durata dell'esposizione e funzionalità dei monociti**, aprendo nuove prospettive nello studio degli effetti biologici a bassissime dosi e bassi ratei di dose.

PROSPETTIVE FUTURE

- analisi di ulteriori parametri della risposta immunitaria;
- integrazione dei risultati biologici con la caratterizzazione del campo di radiazione.