



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA Y DE  
TOXICIDAD ENTRE DOS PROTOCOLOS DE QUIMIO-  
RADIOTERAPIA EN UN MODELO TUMORAL DE CÁNCER  
CÉRVICO-UTERINO EN RATONES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

FÍSICA

P R E S E N T A :

**BLANCA IVONE HERRERA PENILLA**

T U T O R :

**DR. LUIS ALBERTO MEDINA VELÁZQUEZ**



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Hoja de datos del Jurado

### Datos de la alumna

Herrera  
Penilla  
Blanca Ivone  
56 46 09 10  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Física  
09914635-5

### Datos del tutor

Dr.  
Luis Alberto  
Medina  
Velázquez

### Datos del sinodal 1

Dra.  
María Isabel  
Gamboa  
de Buen

### Datos del sinodal 2

M. en C.  
César Gustavo  
Ruiz  
Trejo

### Datos del sinodal 3

M. en C.  
Patricia  
Avilés  
Mandujano

### Datos del sinodal 4

M. en C.  
Miguel  
Rodríguez  
Ponce

### Datos de la Tesis

Comparación de la respuesta terapéutica y de toxicidad entre dos protocolos de quimio-radioterapia en un modelo tumoral de cáncer cérvico-uterino en ratones.

65 p.  
2007

## AGRADECIMIENTOS

*Dr. Luis Alberto Medina Velázquez:*

*¡Gracias Luis! Gracias por escucharme y por ayudarme a realizar esto. Gracias por tu tiempo y por tu paciencia.*

*Al departamento de investigación Básica, INCAN, en especial a:*

*La Dra. Patricia García López y al M. en C. Enrique Pérez Cárdenas por todo el tiempo que han dedicado a este proyecto. Gracias por toda su ayuda y por compartir su conocimiento con nosotros.*

*Al departamento de Biofísica, INCAN, en especial a:*

*M. en C. Miguel Rodríguez Ponce y M. en C. Óscar Ángeles Zaragoza por su valiosísima colaboración, sin la cual no hubiera sido posible el desarrollo de este proyecto. Gracias por su paciencia, por su tiempo y su buen humor.*

*Al departamento de Radioterapia, INCAN.*

*A mis compañeros del INCAN:*

*Carlitos, Vicky, Graciela, Deirdre y Blanca. Gracias por las porras y por los ánimos para terminar esto y por compartir conmigo este momento.*

*A los profesores de la Facultad de Ciencias. Porque cada vez que un estudiante logra esta meta, el mérito también es suyo.*

*A mis compañeros de la Carrera. A todos, pero muy especialmente a:*

*Jorge Amin Semán H., un increíble ser humano, pero sobre todo amigo incondicional. Gracias por estar conmigo, por escucharme, por tu paciencia, por la ayuda que me has dado en todos los aspectos. Gracias por ser quien eres. Te quiero mucho.*

*Ivonne Maldonado. Gracias Ivonne, porque sin saberlo has sido no solo amiga sino un ejemplo para mi y una mujer admirable. ¡Para ti todo mi respeto!*

*Como dejar de agradecer mi Universidad, la Universidad Nacional Autónoma de México, por que ha sido en su espacio donde he vivido momentos inolvidables, donde he conocido a personas admirables y donde me he desarrollado como persona. Esta Universidad me ha dado más que una carrera.*

*En especial a los proyectos PAPIIT-UNAM: IN-110204 y IN114307-2.*

*¡Como la UNAM no hay dos!*

*Este trabajo esta dedicado a mis padres:*

*Carlos Herrera:*

*Papá, ¡Ya Terminé! Gracias por haber estado todo este tiempo a mi lado, gracias por darme siempre mucho más de lo que he necesitado, gracias por todos tus sacrificios y por tu esfuerzo para que pudiera terminar con esto. Gracias por estar aquí para verlo y también por compartirlo.*

*Te quiero como no tienes una idea.*

*Señor Ingeniero: ¡todo mi respeto y admiración para usted!*

*Ofelia Penilla:*

*Nena, ¡Ya la hicimos! Gracias por tus sonrisas, por tus preocupaciones, por tu apoyo. Gracias por darme todo cuanto has podido. Gracias por los buenos momentos y por escucharme, incluyendo todas mis quejas. Sin ti, el camino hubiera sido muy distinto. Gracias por tu alegría y por darme ánimos. Gracias por luchar conmigo y por compartir esto.*

*Nena, ¡te quiero mucho!*

*Esto es para ustedes dos.*

*Quién sino ustedes hay estado siempre allí para mi hermana y para mi.*

*LOS AMO.*

# INDICE GENERAL

<b>1</b>	<b>OBJETIVOS Y JUSTIFICACION</b>	<b>1-4</b>
1.1	OBJETIVO GENERAL	1-4
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	1-4
1.3	JUSTIFICACIÓN	1-4
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2-5</b>
2.1	CÁNCER	2-5
2.2	CÁNCER CÉRVICO-UTERINO	2-5
2.3	OPCIONES DE TRATAMIENTO	2-5
2.3.1	QUIMIOTERAPIA	2-6
	CISPLATINO	2-7
	GEMCITABINA	2-7
2.3.2	RADIOTERAPIA	2-8
	TELETERAPIA	2-9
	BRAQUITERAPIA	2-9
2.3.3	QUIMIO-RADIACIÓN	2-10
2.4	PRODUCCIÓN DE RAYOS X	2-10
2.4.1	EL TUBO DE RAYOS X	2-10
2.4.2	CIRCUITO BÁSICO PARA LA PRODUCCION DE RAYOS X	2-11
2.4.3	RADIACIÓN DE FRENADO (bremsstrahlung)	2-12
2.4.4	RAYOS X CARACTERISTICOS	2-13
2.4.5	ESPECTRO DE RAYOS X	2-13
2.4.6	CALIDAD DE LOS RAYOS X	2-14
2.4.7	FILTROS	2-14
2.4.8	MEDIDA DE LOS PARÁMETROS DE LA CALIDAD DEL HAZ	2-16
	CAPA HEMIRREDUCTORA	2-16
	ENERGÍA EFECTIVA	2-16
2.4.9	GENERADORES CLÍNICOS DE FOTONES	2-16
	ACELERADORES LINEALES	2-16
	EQUIPOS DE COBALTO <sup>60</sup> Co	2-17
	TERAPIA DE ORTOVOLTAJE	2-19
2.5	INTERACCIÓN DE RADIACIÓN IONIZANTE CON LA MATERIA	2-19
2.6	DESCRIPCION DE UN HAZ DE FOTONES	2-20
2.6.1	ATENUACION DE UN HAZ DE FOTONES	2-21
	GEOMETRÍA DE HAZ ANGOSTO	2-21
2.6.2	CAPA HEMIRREDUCTORA	2-22
2.6.3	COEFFICIENTES	2-23
	COEFICIENTES DE ATENUACIÓN	2-24
	COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA	2-24
	COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE ENERGÍA	2-25
2.7	INTERACCIÓN DE LOS FOTONES CON LA MATERIA	2-25
2.7.1	EFFECTO COMPTON	2-26
2.7.2	EFFECTO FOTOELÉCTRICO	2-27
2.7.3	PRODUCCIÓN DE PARES	2-29
2.7.4	IMPORTANCIA RELATIVA DE LOS TRES TIPOS DE INTERACCIONES	2-30
2.7.5	EQUILIBRIO DE PARTÍCULA CARGADA	2-31
2.8	DOSIMETRÍA DE LA RADIACIÓN	2-33
2.8.1	EXPOSICIÓN	2-33

2.8.2	KERMA.....	2-33
2.8.3	DOSIS ABSORBIDA .....	2-35
2.8.4	TASA DE EXPOSICIÓN.....	2-36
<b>2.9</b>	<b>DOSIMETRÍA CON PELÍCULAS DE TINTE RADIOCRÓMICO .....</b>	<b>2-36</b>
	PELÍCULA RADIOCRÓMICA DOSIMÉTRICA GAFCHROMIC® HS .....	2-37
	DENSIDAD ÓPTICA.....	2-38
<b>3</b>	<b>METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>3-40</b>
	MODELOS TUMORALES .....	3-40
	CÁLCULO DEL VOLUMEN TUMORAL .....	3-41
	GRUPOS EXPERIMENTALES.....	3-41
	RADIOTERAPIA .....	3-42
	QUIMIOTERAPIA .....	3-44
	EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD.....	3-45
	ENSAYO CLONOGÉNICO .....	3-46
	DOSIMETRÍA CON PELÍCULA DE TINTE RADIOCRÓMICO (PTR) .....	3-46
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	3-51
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>4-52</b>
<b>5</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>5-58</b>
	DOSIMETRÍA .....	5-58
	COMPARACIÓN EN LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS .....	5-59
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>6-62</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>7-64</b>

## **R E S U M E N**

Con el fin de comparar la respuesta terapéutica y de toxicidad entre dos tratamientos de quimio-radiación en modelos tumorales en animales de laboratorio, se implementó un protocolo de quimioterapia y radioterapia utilizando un generador de rayos X de ortovoltaje. Para ello se implanto un tumor en las extremidades inferiores de ratones atímicos nu/nu mediante la inoculación de  $5 \times 10^6$  células cancerosas de la línea celular HeLa<sup>1</sup> de cáncer cérvico-uterino. El primer tratamiento de quimio-radioterapia, el equivalente al utilizado clínicamente en pacientes con cáncer cérvico-uterino, consistió en una dosis de 50 Gy como tratamiento de radioterapia, así como, cisplatino y gemcitabine, este último a dosis de radiosensibilizante, como tratamiento de quimioterapia. El segundo tratamiento consistió también en una dosis de 50 Gy como radioterapia, aunque únicamente se administró gemcitabina a dosis de radiosensibilizante como tratamiento de quimioterapia. El grupo experimental que recibió el tratamiento de quimio-radioterapia con cisplatino y gemcitabina mostró disminución de peso como resultado de la toxicidad asociada al cisplatino. El tratamiento de quimio-radioterapia que únicamente utilizó gemcitabina, demostró ser tan efectivo como el otro, con la ventaja adicional de una menor toxicidad. Ambos tratamientos lograron controlar y eliminar el tumor implantado. Este resultado, además de estar reflejado en el volumen tumoral al final del tratamiento, se comprobó mediante el ensayo clonogénico realizado sobre las células extirpadas de los tumores 15 días después de finalizado el tratamiento.

Considerando que los equipos de radioterapia del Instituto Nacional de Cancerología (INCAN), el generador de rayos X Gulmay 225 e irradiador de <sup>60</sup>Co, fueron previamente calibrados por personal calificado de la misma instancia, se empleó película radiocrómica dosimétrica Gafchromic® HS para realizar la curva de calibración de la misma. Mediante esta curva fue posible verificar que la dosis suministrada a los tumores en el tratamiento de radioterapia fuese homogénea. También, se realizó la curva de calibración del irradiador de <sup>60</sup>Co, los resultados muestran una dependencia en la respuesta de la película dosimétrica como función de la energía de los fotones empleados.

---

<sup>1</sup> Se explica qué son las células HeLa en la nota al pie de la pagina 3-40.

# 1 OBJETIVOS Y JUSTIFICACION

## 1.1 OBJETIVO GENERAL

Implementar un protocolo de quimio-radioterapia en ratones atímicos utilizando un equipo generador de rayos X de ortovoltaje para comparar la respuesta terapéutica y de toxicidad entre dos protocolos de quimio-radiación.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar un protocolo que utiliza radiación ionizante, cisplatino en dosis terapéuticas y gemcitabina en dosis de radiosensibilizante con un segundo protocolo que utiliza radiación ionizante y gemcitabina en dosis de radiosensibilizante.

Valorar la metodología empleada en el desarrollo del modelo tumoral<sup>2</sup>, así como el procedimiento utilizado para el tratamiento de radioterapia y la evaluación del mismo.

## 1.3 JUSTIFICACIÓN

En México el cáncer cérvico uterino se encuentra entre las primeras causas de muerte por cáncer en mujeres. El uso de quimio-radioterapia simultánea basada en cisplatino es el tratamiento estándar utilizado clínicamente en pacientes con etapas avanzadas de cáncer. Sin embargo, el alto grado de toxicidad asociado al cisplatino (nefrotoxicidad, neurotoxicidad, etc.) ha demostrado muchas limitaciones prácticas en su uso clínico. Por otra parte, el uso del cisplatino junto con radiosensibilizantes como la gemcitabina, ha resultado ser una combinación lógica de tratamiento con gran potencial terapéutico[1]. Dado que es poca la investigación preclínica de este tipo que se tiene reportada en nuestro país, surge la idea de comparar la respuesta entre estos dos tratamientos al tiempo que se desarrolla una metodología propia para experimentar con modelos tumorales en ratones atímicos. El presente trabajo pretende establecer los lineamientos para desarrollar un protocolo de tratamiento de quimio-radiación en etapas de investigación preclínica, equivalente al utilizado en pacientes, utilizando un equipo generador de rayos X de ortovoltaje, lo que permitirá contribuir al desarrollo de una metodología experimental de quimio-radioterapia que se utilizará en futuras investigaciones de este tipo en el INCAN.

---

<sup>2</sup> Aunque el término “modelo tumoral” se refiere a la implantación de las células cancerosas para el crecimiento de la masa tumoral, los términos “modelo tumoral”, “masa tumoral” y “tumor” se emplearan como sinónimos en el presente trabajo.

## 2 INTRODUCCIÓN

### 2.1 CÁNCER

El cáncer consiste en una rápida y desordenada proliferación de células que está fuera del mecanismo de control normal del cuerpo. Las masas celulares creadas por este proceso son conocidas como tumores. Las células cancerosas poseen la capacidad de invadir tejidos adyacentes, así como de esparcirse vía linfática o mediante los vasos sanguíneos hacia otras partes del organismo (*metástasis*). El cáncer se caracteriza por el crecimiento y propagación de tumores que, de no ser tratados rápida y adecuadamente, pueden inhibir las funciones normales del tejido u órgano huésped causando, incluso, la muerte del organismo entero. Es por ésta razón que el cáncer es también, uno de los problemas de salud más alarmantes en el mundo, comparable incluso con las enfermedades del corazón como causa potencial de muerte [2, 3].

### 2.2 CÁNCER CÉRVICO-UTERINO

El cáncer cérvico-uterino (CaCu) es el tercer tipo más común de cáncer en afectar a las mujeres a nivel mundial. La magnitud de esta enfermedad es mucho más grave cuando se considera que la mayoría de los casos ocurren en países en vías de desarrollo. En México, el CaCu es la primera causa de muerte debida a cáncer en mujeres en edad reproductiva y constituye un problema importante de salud pública[4]. La mayoría de las pacientes con este tipo de cáncer son diagnosticadas en etapas avanzadas, por lo que la radioterapia es la modalidad terapéutica más utilizada.

En la búsqueda de tratamientos más efectivos se ha establecido, el uso de quimioterapia y radioterapia (quimio-radioterapia) simultáneas basada en cisplatino (como agente terapéutico) como tratamiento estándar [1]. A pesar del avance en nuevas terapias, los resultados clínicos siguen estando lejos de ser óptimos, por lo que deben investigarse nuevas modalidades de tratamiento. Entre otras, una estrategia lógica es combinar la radiación con nuevos radiosensibilizantes [1].

### 2.3 OPCIONES DE TRATAMIENTO

El objetivo de la terapia contra el cáncer es remover o eliminar las células cancerosas evitando así, futuras proliferaciones. Las principales formas de tratamiento consisten en; a) cirugía para extraer la masa tumoral, b) fármacos para eliminar y prevenir la proliferación de

células dañinas (quimioterapia), c) fortalecer las defensas del propio organismo (inmunoterapia) y d) el uso de radiación ionizante (radioterapia). Estas modalidades pueden ser usadas solas o en combinación.

En términos de tratamiento, la enfermedad puede ser dividida en etapa temprana y enfermedad localmente avanzada. El tratamiento para etapas tempranas es principalmente la cirugía. En el tratamiento quirúrgico de estadios tempranos, la combinación de diversos factores de riesgo determina el uso de radioterapia adyuvante<sup>3</sup> o quimio-radiación, respectivamente [1].

El CaCu localmente avanzado ha sido definido como un tumor cuyo tamaño excede aquel que puede ser tratado con éxito utilizando únicamente cirugía. Dentro de los estudios realizados en los últimos 20 años para combatir la enfermedad localmente avanzada, se demostró que el tratamiento con quimioterapia utilizando cisplatino es superior en resultados que cuando se utiliza radioterapia como tratamiento unimodal, como se había hecho anteriormente [1]. Desde entonces, la quimio-radiación basada en cisplatino ha sido ampliamente aceptada como el tratamiento estándar para pacientes con cáncer cervical en estado avanzado.

### **2.3.1 QUIMIOTERAPIA**

La quimioterapia consiste en el uso de diversos fármacos con el fin de destruir células cancerosas. A diferencia de la radiación y la cirugía, que son tratamientos localizados, la quimioterapia es un tratamiento sistémico, esto significa que los fármacos circulan por todo el organismo. Este hecho es el que hace posible eliminar a las células cancerosas que hayan resultado de probables metástasis.

Las bases de la quimioterapia se encuentran en el ciclo celular, puesto que los medicamentos utilizados se enfocan e interrumpen distintas fases del ciclo. En un ciclo celular normal, las células crecen, se dividen y mueren de manera ordenada. Las células anormales (cancerosas) en cambio, se reproducen de modo desordenado e incontrolable. Esta reproducción desordenada de las células cancerosas es lo que permite a los medicamentos actuar sobre ellas [5]. Sin embargo, las células sanas también se reproducen, de manera que éstas también son afectadas por la quimioterapia causando los llamados

---

<sup>3</sup> Adyuvante: tratamientos o procedimientos adicionales que se emplean para aumentar la eficacia o la seguridad de un tratamiento o procedimiento primarios, o para facilitar su realización.

efectos secundarios. La efectividad de esta terapia depende de la diferencia en la sensibilidad entre las células cancerosas y las células normales de cada organismo.

### **CISPLATINO**

El cisplatino es un compuesto químico usado en la terapia contra el cáncer. Este fármaco forma uniones entre las cadenas de la doble hélice de ADN (ácido desoxirribonucleico), lo que provoca interferencias importantes en la fase S del ciclo celular que es donde se lleva a cabo la síntesis del ADN. Es así como inhibe la multiplicación de las células.

Como agente quimioterapéutico, el cisplatino provoca agudas y diversas toxicidades, principalmente hematológicas: neutropenia (insuficiencia del sistema inmunológico causado por la escasez de glóbulos blancos), trombocitopenia y anemia (escasez de glóbulos rojos y plaquetas, respectivamente). También se observan daños renales, hepáticos y gastrointestinales. A pesar de esto, el cisplatino ha demostrado ser altamente efectivo, por lo que, actualmente, es el principal fármaco utilizado en la terapia del cáncer cervico-uterino.

No obstante la efectividad demostrada por el cisplatino y con el afán de mejorar la calidad de vida del paciente, la búsqueda de más y mejores fármacos (de gran efectividad pero con menores efectos tóxicos) continúa.

### **GEMCITABINA**

La gemcitabina es un fármaco que se utiliza como radiosensibilizante en el tratamiento del CaCu, es decir, empleada a dosis menores que las usadas habitualmente con otros agentes quimioterapéuticos, posee la capacidad de potenciar el efecto biológico de la radiación sobre las células tumorales. La radiosensibilización puede presentarse por una larga exposición de bajas concentraciones o durante un tratamiento corto con dosis más altas del fármaco. La gemcitabina radiosensibiliza una amplia variedad de líneas celulares de cáncer, por lo que, ha sido evaluada en combinación con radiación en el tratamiento de varios tipos de cáncer.

Hasta la fecha, se ha demostrado que la gemcitabina tiene un gran sinergismo con la radiación y en combinación con el cisplatino u oxaliplatino<sup>4</sup> en distintas líneas celulares de CaCu produce respuestas significativas empleada como terapia neoadyuvante<sup>5</sup>[1].

En los diversos estudios realizados con gemcitabina, se observó que los efectos secundarios causados por éste fármaco son de “grado leve” en comparación con los causados por cisplatino, entre los cuales neutropenia, anemia y trombocitopenia fueron los más

---

<sup>4</sup> Otro compuesto químico que, al igual que el cisplatino, también contiene platino.

<sup>5</sup> Neoadyuvante. Se dice que un tratamiento es neoadyuvante cuando es un tratamiento auxiliar que se realiza antes del tratamiento principal.

frecuentes. Sin embargo, la calidad de vida y el estado general de los pacientes no se deterioraron [6]. Tomando en cuenta lo anterior, está claro que la gemcitabina es el agente más prometedor como radiosensibilizante en cáncer cervical.

### **2.3.2 RADIOTERAPIA**

La radioterapia es el proceso clínico que utiliza la radiación como medio para destruir la capacidad de las células cancerosas de crecer y dividirse. Su objetivo es administrar una dosis exacta de radiación sobre un volumen bien definido de tejido dañino, procurando causar el menor daño al tejido sano que lo rodea.

La base de la radioterapia es la interacción de partículas ionizantes (rayos X, rayos gamma, electrones, etc.) con los tejidos a nivel molecular. Las partículas ionizantes generan partículas cargadas secundarias, regularmente electrones, que pueden romper los enlaces químicos y causar daño celular. La radioterapia es proporcionada por un haz externo (radioterapia externa o *teleterapia*), por un implante intersticial, intratumoral o intracavitario (radioterapia interna o *braquiterapia*), o una combinación de ambos. La teleterapia supone irradiación con partículas energéticas a cierta distancia del paciente, en esta modalidad la mayoría de los pacientes son tratados con rayos X o rayos gamma (fotones), debido a su penetración y uniformidad de haz. La braquiterapia, por otro lado, supone la colocación de fuentes radiactivas cerca o dentro del tumor.

Así, la energía radiante es depositada en el material biológico de un modo discreto y aleatorio, y los efectos biológicos ocurren como resultado de la transferencia de energía a los átomos o moléculas dentro de la célula. La energía es distribuida aleatoriamente dentro de la célula, de modo que los rayos X golpean una amplia colección de moléculas. Mientras más grande sea el tamaño del tumor, mayor cantidad de radiación será necesaria para tratarlo. La muerte celular ocurre de forma de aleatoria y es aplicable tanto al tejido sano como a células tumorales [7], es decir, erradicar tumores dentro del cuerpo humano usando radiación ionizante implica que los haces de radiación también atravesarán tejido sano con la posible destrucción de células normales, lo que podría traer serias complicaciones como resultado del tratamiento [2].

En la mayoría de los tejidos, las lesiones no letales son reparadas en menos de tres horas, sin embargo, para algunos tejidos pueden ser necesarias más de 24 horas [7]. Lo importante es asegurar que el tejido sano sea reparado, esto explica porque la radioterapia debe ser administrada en varias dosis fraccionadas. Así, es posible que los daños causados al tejido sano sean reparados en los intervalos entre irradiaciones, proporcionando una ventaja

terapéutica sobre las células tumorales que debido a su activa reproducción son más susceptibles a la radiación [2].

Por tanto, se necesita una dosis total mayor para producir el efecto biológico deseado cuando se administra en varias fracciones a diferencia de una sola dosis. Mientras más grande sea el número de fracciones, mayor será la oportunidad de que el daño sea reparado entre las dosis fraccionadas [7]. La relación dosis-respuesta para las lesiones causadas al tejido sano es el factor limitante para determinar la cantidad de radiación que debe administrarse. Así, si se incrementa el tamaño del tumor, la dosis necesaria para el control local del tumor también se incrementa, por lo que, el riesgo de causar lesiones en el tejido sano se hace mayor [7].

### **TELETERAPIA**

El tratamiento con haces externos es la forma más común de radioterapia. Se entiende la teleterapia como la aplicación de uno o varios campos bien definidos de radiación ionizante sobre un área del cuerpo, y a una cierta distancia de éste, con la finalidad de tratar tumores cancerosos. Normalmente es administrada con un haz de fotones, generalmente rayos X altamente energéticos producidos por un acelerador lineal, aunque también se utilizan rayos gamma provenientes de fuentes de cobalto. Rayos X de bajas energías producidos por voltajes en el rango de 50-300 kV también pueden ser empleados. Adicionalmente, haces de electrones en el rango de MeV se utilizan para tratar tumores superficiales logrando dosis más localizadas que con haces de fotones [3].

Los equipos de teleterapia generalmente consisten en una fuente de radiación, un sistema de colimación del haz de radiación y una mesa en la que se coloca al paciente, y que tiene la posibilidad de moverse en las tres direcciones espaciales, así como rotar sobre su eje transversal [4].

### **BRAQUITERAPIA**

Este tratamiento utiliza fuentes radiactivas selladas que se colocan dentro del volumen tumoral con la finalidad de dar una dosis bien localizada, lo que servirá para minimizar la dosis a los tejidos sanos que se encuentran alrededor del tumor. La braquiterapia está limitada a tumores pequeños y localizados, en los cuales es posible la aplicación de estas fuentes radiactivas [3].

### 2.3.3 QUIMIO-RADIACIÓN

El término quimio-radiación se refiere a una combinación de quimioterapia y radioterapia. El mecanismo de la interacción entre ambos no se conoce completamente. Se pensaba inicialmente que la radiación controlaba la enfermedad localmente, mientras que la quimioterapia controlaba las metástasis fuera del campo de radiación. De cualquier modo, crecientes evidencias sugieren que la quimioterapia y la radiación interactúan e incrementan la sensibilidad del tumor local a la radioterapia. La quimioterapia y la radioterapia han sido estudiadas principalmente en dos modalidades: neoadyuvante y concurrente. La quimioterapia neoadyuvante (pre-radiación) es administrada en un esfuerzo por reducir el volumen tumoral antes de la radioterapia, mientras que, en la quimioterapia concurrente, se debe dar más atención a la toxicidad de la quimioterapia y en la posible potenciación de la toxicidad de la radiación [1].

Uno de los agentes más usados en la quimio-radiación concurrente dentro del tratamiento de CaCu es el cisplatino. Precisamente, como ya se mencionó, el objetivo de éste trabajo es comparar la respuesta terapéutica y de toxicidad entre dos protocolos de quimio-radiación concurrente. El primero, tal como se efectúa en el tratamiento estándar para pacientes con CaCu, utiliza cisplatino como agente quimioterapéutico y gemcitabina como radiosensibilizante, mientras que en el segundo, únicamente utilizará gemcitabina como radiosensibilizante. Esto con la finalidad de evaluar, en un modelo tumoral, la respuesta terapéutica de ambos tratamientos para desarrollar posteriormente protocolos alternativos de quimio-radiación en etapas de investigación preclínica<sup>6</sup>.

## 2.4 PRODUCCIÓN DE RAYOS X

### 2.4.1 EL TUBO DE RAYOS X

Los rayos X fueron descubiertos por Roentgen en 1895 cuando estudiaba los rayos catódicos en un tubo de descargas de gas. La Figura 2-1 muestra un esquema de un tubo de rayos X. El tubo consiste en una envoltura de vidrio herméticamente sellada donde se ha hecho el vacío. En uno de los extremos se encuentra el cátodo; un filamento de tungsteno que, al calentarse, emite electrones como resultado de un proceso conocido como *emisión termiónica*. En el otro extremo se encuentra el ánodo; una gruesa barra de cobre al final de

---

<sup>6</sup> La investigación preclínica, también llamada investigación en animales, proporciona información sobre el posible mecanismo de acción, la farmacocinética y la toxicidad de los fármacos, sin embargo, no permite valorar las funciones cognitivas superiores o las reacciones adversas posibles en la especie humana.

la cual se ha colocado un pequeño blanco de tungsteno. Cuando se aplica un alto voltaje entre el cátodo y el ánodo los electrones emitidos por el filamento son acelerados hacia el ánodo, alcanzando altas velocidades antes de impactar en el blanco. Los rayos X son producidos por la súbita desviación o aceleración de los electrones causada por la fuerza atractiva de los núcleos de tungsteno. Como resultado, un haz de rayos X emerge a través de una ventana de vidrio delgada que se encuentra en la envoltura del tubo.

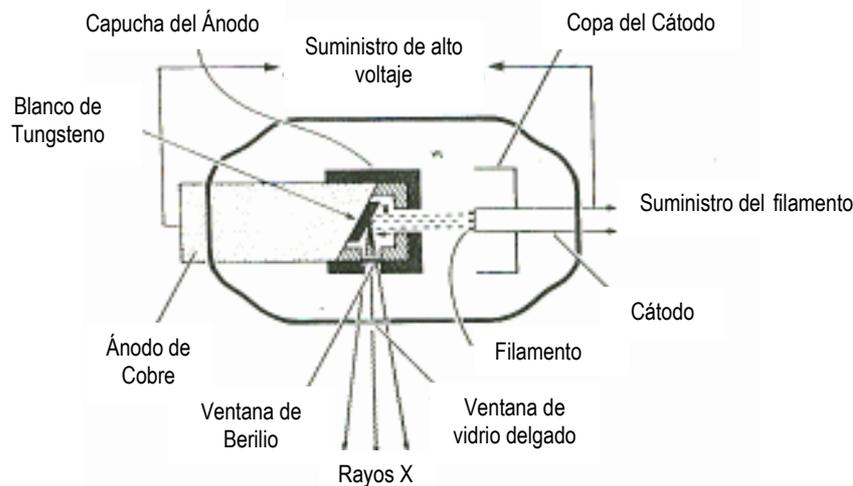


Figura 2-1: Esquema de un tubo de rayos X para terapia

La eficiencia de la producción de rayos X depende del número atómico ( $Z$ ), es por esto que se ha elegido tungsteno como blanco en el ánodo, puesto que, además de tener un alto número atómico ( $Z=74$ ), también posee un elevado punto de fusión ( $3370^{\circ}\text{C}$ ) lo que lo hace resistente a el intenso calor producido por el bombardeo electrónico. Este calor debe ser evacuado eficientemente, razón por lo cual, el tubo de rayos X está sumergido en un baño de aceite. La función de este baño de aceite, también es la de aislar la envoltura del tubo de los altos voltajes aplicados al tubo [8].

## 2.4.2 CIRCUITO BÁSICO PARA LA PRODUCCION DE RAYOS X

Un circuito simplificado para producir rayos X puede dividirse en dos partes. El circuito de alto voltaje que provee el potencial acelerador para los electrones y el circuito de bajo voltaje que proporciona la corriente de calentamiento al filamento. Puesto que el voltaje aplicado entre el cátodo y el ánodo es lo suficientemente alto para acelerar los electrones a través del tubo hacia el blanco, la temperatura o corriente en el filamento controla la corriente en el tubo y, por tanto, la intensidad de los rayos X.

Usualmente se suministran al filamento 10 V a 6 A para la emisión electrónica. La corriente en el filamento puede ser variada ajustando el voltaje aplicado al filamento. Puesto que un pequeño cambio en el voltaje o la corriente en el filamento producen un gran cambio en la emisión electrónica, es necesario un transformador que elimina las variaciones normales en la línea de voltaje. El suministro de alto voltaje para el tubo de rayos X es proporcionado por un transformador que, a su vez está conectado a un auto-transformador y a un reóstato. La función del auto-transformador es proporcionar un modo de variar el voltaje. El reóstato es una resistencia variable por medio de la cual se puede variar el voltaje de manera continua. El voltaje alterno aplicado al tubo de rayos X es caracterizado por el voltaje máximo o voltaje pico y su frecuencia [8].

Existen dos mecanismos diferentes a través de los cuales se pueden producir rayos X: radiación de frenado (bremsstrahlung) y rayos X característicos.

### **2.4.3 RADIACIÓN DE FRENADO (bremsstrahlung)**

La palabra “bremsstrahlung” proviene del idioma alemán que significa “radiación de frenado”<sup>7</sup>. Es resultado de la interacción entre un núcleo y un electrón a alta velocidad. El electrón que pase cerca de un núcleo será desviado de su trayectoria original debido a las fuerzas Coulombianas y perderá energía como bremsstrahlung.

Puesto que un electrón puede tener varias interacciones de este tipo, una interacción puede ocasionar la pérdida parcial o total de la energía del electrón. La dirección de la emisión de bremsstrahlung depende de la energía de los electrones incidentes.

La energía perdida por electrón depende del cuadrado del número atómico ( $Z^2$ ). Por tanto la producción de bremsstrahlung depende de la segunda potencia del número atómico del material y del voltaje aplicado al tubo. La eficiencia se define como la razón de la energía emitida como rayos X por la energía de entrada depositada por los electrones, por lo que, la eficiencia en la producción de rayos X utilizando un blanco de tungsteno ( $Z=74$ ) con un voltaje de 100 kV es menor al 1%. El resto de la energía es dispersada en forma de calor.

---

<sup>7</sup> De aquí en adelante, y por convención, se utilizará el término bremsstrahlung para referirse a la radiación de frenado.

#### 2.4.4 RAYOS X CARACTERISTICOS

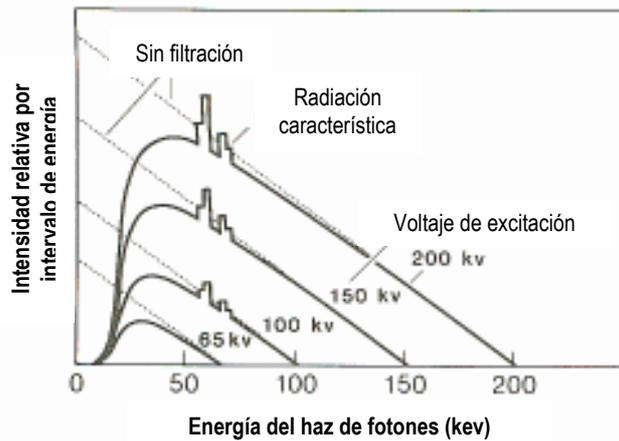
Un electrón con una energía cinética  $E_o$  o un fotón con energía  $h\nu$ , puede interaccionar con los átomos del blanco de tungsteno expulsando uno de sus electrones orbitales de las capas K, L, M o N, dejando al átomo en estado ionizado y creando al mismo tiempo una vacancia en tal capa. Un electrón orbital de las capas exteriores puede caer en dicha vacancia irradiando energía en forma de radiación electromagnética. Esta radiación recibe el nombre de radiación característica, es decir, característica de cada átomo y de las capas electrónicas entre las cuales se lleva a cabo la transición. Cuando los átomos poseen un número atómico lo suficientemente elevado, la radiación característica emitida es de energía lo suficientemente alta como para considerarse en la parte de los rayos X del espectro electromagnético[8]. A diferencia del bremsstrahlung, la radiación característica es emitida en forma discreta. Si la transición electrónica se realiza entre las capas L y K, el fotón emitido tendrá una energía igual a

$$h\nu = E_K - E_L \quad (2.1)$$

donde  $E_K$  y  $E_L$  son las energías de enlace de los electrones de las capas K y L, respectivamente.

#### 2.4.5 ESPECTRO DE RAYOS X

El haz de fotones producido por una máquina generadora de rayos X es heterogéneo en energías. La Figura 2-2 muestra la distribución de un espectro típico de rayos X. Este espectro muestra una distribución continua de energía debida al bremsstrahlung que se superpone a la radiación discreta debida a los rayos X característicos. Si no se aplica algún tipo de filtración, el espectro será una línea recta (mostrada como una línea punteada en la figura). Sin embargo, este espectro es modificado por la filtración inherente a un tubo de rayos X (absorción en el blanco, en las paredes del tubo o en la delgada ventana de berilio) que equivale a un filtro de aluminio que esta entre los 0.5 y 1.0 mm aproximadamente. Filtración adicional, colocada en la parte exterior del tubo, ocasionará otras modificaciones al espectro. La filtración afecta principalmente la parte del espectro de energías bajas y no así la distribución de altas energías del haz de fotones. El propósito de la filtración es obtener un haz con fotones de energías mayores absorbiendo los rayos X de bajas energías. Cuando la filtración se incrementa el haz transmitido se endurece, es decir, adquiere una energía promedio mayor y, por tanto, su poder de penetración aumenta.



**Figura 2-2:** Distribución espectral de rayos X para un blanco de tungsteno. Las líneas punteadas indican que no hay filtración mientras que las líneas sólidas muestran el espectro de un haz con una filtración de 1 mm de Al.

### 2.4.6 CALIDAD DE LOS RAYOS X

Debido a que, los rayos X producidos por generadores de radiación son heterogéneos en energías, es decir, poseen un espectro continuo que depende del voltaje pico o voltaje máximo, del material del blanco, de la filtración del haz, entre otras cosas, es difícil caracterizarlos por su energía, por su espectro o por su “grado” de endurecimiento. Además, este tipo de caracterización, es de poca utilidad en radioterapia, por lo que, se considera más conveniente usar el poder de penetración del haz, el cual puede especificarse en términos de la capa hemirreductora<sup>8</sup> (HVL). Esta habilidad de la radiación para penetrar materiales de composición conocida se conoce como “calidad” de la radiación y cobra gran significado cuando se emplea en radioterapia.

En el caso de rayos X de baja energía (debajo del rango de megavoltajes) se acostumbra describir la calidad de los rayos X utilizando tanto la HVL como el voltaje máximo utilizado (kVp). Sin embargo, para el rango de megavoltajes la calidad del haz se especifica utilizando la energía pico y rara vez, por la HVL.

### 2.4.7 FILTROS

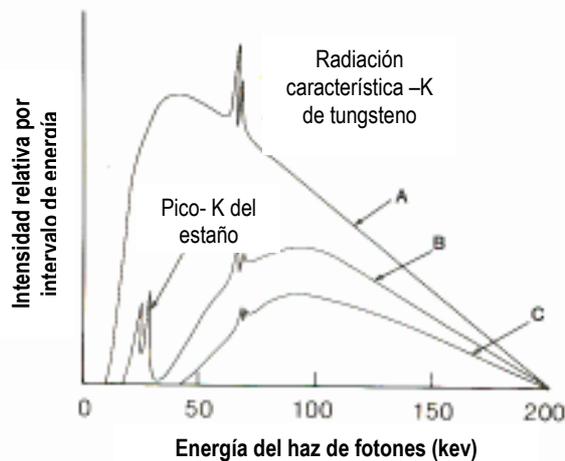
Debido a la heterogeneidad de los rayos X producidos en un generador, y a la presencia de rayos X característicos que se producen cuando el haz interacciona con los variados materiales que atraviesa, se emplean diversos filtros con la finalidad de optimizar la intensidad del haz. Veamos un ejemplo:

---

<sup>8</sup> La HVL se describe con detalle más adelante en la sección 2.6.2.

La radiación K característica producida en el blanco de tungsteno posee energías discretas entre 58 y 69 keV. Mientras que las líneas más bajas de emisión del tungsteno son removidas efectivamente por la filtración inherente (la filtración debida a la envoltura de vidrio del tubo de rayos X, al aceite en que está sumergido y a la ventana de salida de los rayos X), las líneas K del tungsteno pueden removerse satisfactoriamente utilizando un filtro de estaño (Figura 2-3).

Sin embargo, el estaño produce también su propia radiación característica. Ya que las líneas de absorción K del estaño son de 29.2 keV, éste absorbe fuertemente fotones por arriba de 29.2 keV por efecto fotoeléctrico<sup>9</sup>. Para absorber la fluencia de energía debajo de las líneas K del estaño, incluyendo su radiación característica, se utiliza un filtro de cobre. La línea de emisión característica K del cobre es de 9 keV, por lo que, fotones por debajo de 29 keV son absorbidos por el filtro de cobre. Los rayos X característicos del cobre pueden ser absorbidos eficientemente por un filtro de aluminio añadido al filtro de cobre[8].



**Figura 2-3:** Esquema de los cambios en la distribución espectral de un haz de rayos X con varios filtros. Curva A es para Al, curva B para Sn + Al y curva C para Sn + Cu + Al.

La combinación de filtros de estaño, cobre y aluminio ha sido diseñada para incrementar la HVL resultante de los rayos X de ortovoltaje<sup>10</sup> sin reducir la intensidad del haz hasta valores inaceptablemente bajos. La combinación de filtros debe ser colocada en el orden correcto, con el material de mayor número atómico (Sn, Z=50) cercano al blanco de tungsteno y el más bajo (Al, Z=13) del lado del paciente, con el de cobre entre ambos (Cu, Z=29). El

<sup>9</sup> Del efecto fotoeléctrico se hablará más adelante.

<sup>10</sup> Los rayos X de ortovoltaje son producidos con potenciales que van desde 150 hasta 500kV, se describen un poco más adelante en este trabajo

propósito principal de los filtros es absorber los componentes del espectro de menores energías dejando pasar sólo los componentes de alta energía. Proveer filtración adicional es un modo de mejorar el poder de penetración del haz [8].

## **2.4.8 MEDIDA DE LOS PARÁMETROS DE LA CALIDAD DEL HAZ**

### **CAPA HEMIRREDUCTORA**

Los datos para determinar el coeficiente de atenuación lineal ( $\mu$ ) son obtenidos al medir la exposición transmitida a través de absorbedores de distintos gruesos pero de la misma composición. Luego estos datos son graficados en papel semilogaritmico para determinar la HVL<sup>11</sup>. En general, la HVL se incrementa al incrementarse el espesor del filtro, cuando el haz se hace mas “duro”, es decir, cuando contiene una gran porción de fotones altamente energéticos. Después de cierto espesor, sin embargo, cualquier filtración adicional puede resultar en un haz más “suave” debido al efecto compton [8].

### **ENERGIA EFECTIVA**

También es posible expresar la calidad de un haz de rayos X en términos de su energía efectiva (o equivalente). Puesto que el coeficiente lineal de atenuación<sup>12</sup>  $\mu$  y la HVL están interrelacionados, la energía efectiva puede definirse como la energía de un haz monoenergético de fotones que posea la misma HVL que el haz heterogéneo que se quiere calificar, también puede determinarse encontrando la energía de los fotones monoenergéticos que tienen el mismo  $\mu$  que el haz heterogéneo en cuestión [8].

## **2.4.9 GENERADORES CLÍNICOS DE FOTONES**

### **ACELERADORES LINEALES**

Son aceleradores de partículas cargadas cuya interacción con un blanco produce el campo de radiación. En un acelerador lineal de rayos X (Figura 2-4), las partículas aceleradas son electrones obtenidos al calentar un filamento de tungsteno que libera electrones por excitación térmica. El dispositivo que acelera los electrones consta de dos cavidades; los electrones son acelerados hacia la primera cavidad por un pulso de voltaje negativo, y al

---

<sup>11</sup> HVL Capa hemireductora, se describe en la sección 2.6.2

<sup>12</sup> Coeficiente lineal de atenuación  $\mu$ , se describe en la sección 2.6.3

entrar en tal cavidad son impulsados por microondas que generan un campo eléctrico alterno a lo largo de la cavidad. La variación del campo eléctrico actúa como modulador de velocidad, así, algunos de los electrones que entran en la cavidad son acelerados mientras otros son frenados, y otros permanecen sin ser afectados. Para obtener el haz de rayos X, se hace incidir a los electrones acelerados sobre un blanco de tungsteno, y como resultado de las interacciones entre los electrones y los átomos del blanco se obtiene un espectro continuo de rayos X debido al *bremstrahlung*, con energía máxima igual a la energía de los electrones incidentes [4].

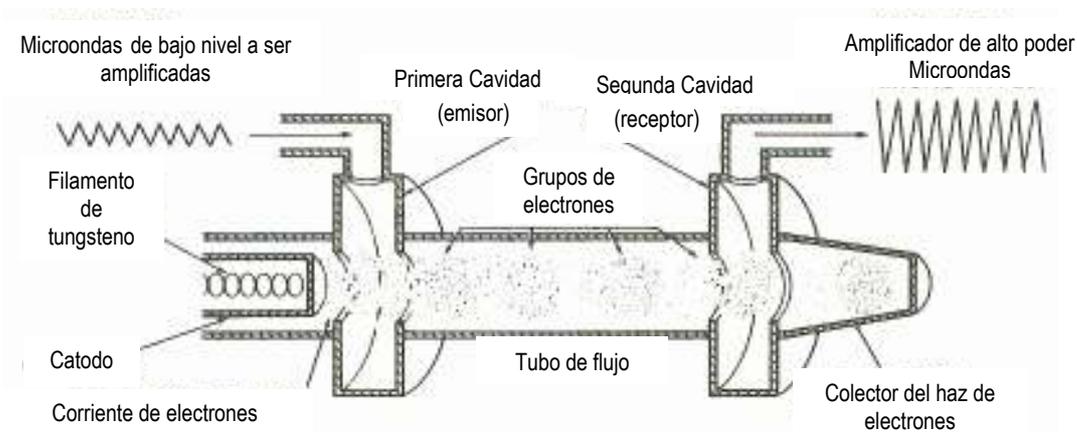


Figura 2-4: Acelerador lineal de rayos X

## EQUIPOS DE COBALTO $^{60}\text{Co}$

La fuente de radiación, consistente en  $^{60}\text{Co}$ , de los equipos de teleterapia se encuentra dentro de un contenedor de acero sellado. Los equipos de cobalto empleados actualmente en radioterapia, como el que se muestra en la Figura 2-5, utilizan un sistema neumático (cilindro de aire) para mover la fuente desde su posición de almacenamiento (posición de apagado) hasta la posición de exposición o encendido. La fuente no deja de emitir radiación, simplemente es colocada en una posición dada, de modo que, la radiación emitida es atenuada lo suficiente para no rebasar los límites permitidos por los organismos de seguridad radiológica. La fuente está colocada dentro de un cajón de plomo. La geometría con la que está construido este sistema permite reemplazar la fuente fácilmente. Además, gracias a una aguja, colocada en la parte superior del cilindro y que sale de la estructura del aparato cuando éste está en posición de encendido, es posible llevar de forma manual la fuente hasta su posición de almacenamiento en caso de ser necesario.

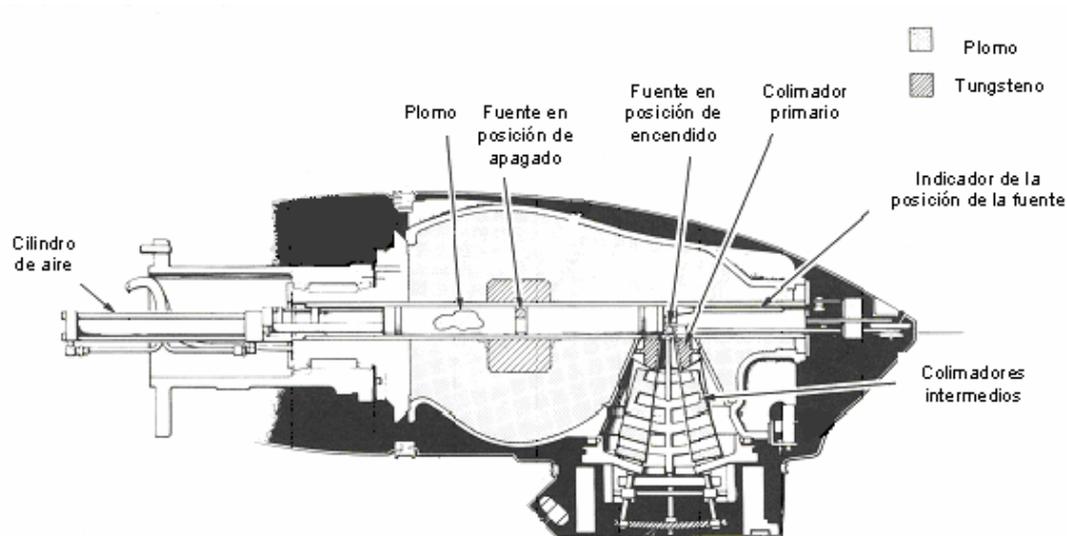


Figura 2-5: Irradiador de  $^{60}\text{Co}$  empleado clínicamente para radioterapia

El  $^{60}\text{Co}$  tiene una vida media de 5.26 años y decae al  $^{60}\text{Ni}$  mediante la emisión de partículas  $\beta^-$  (electrones) con energías de 0.32 MeV (99.9%) y 1.48 MeV (0.1%). Al decaer los dos estados excitados del  $^{60}\text{Ni}$  se emiten rayos  $\gamma$  de dos distintas energías: 1.17 MeV y 1.33 MeV, esta es la radiación utilizada en teleterapia. Por practicidad se considera que la energía de estos rayos  $\gamma$  emitidos por el  $^{60}\text{Co}$  es de 1.25 MeV, que es el promedio de ambas energías (Figura 2-6).

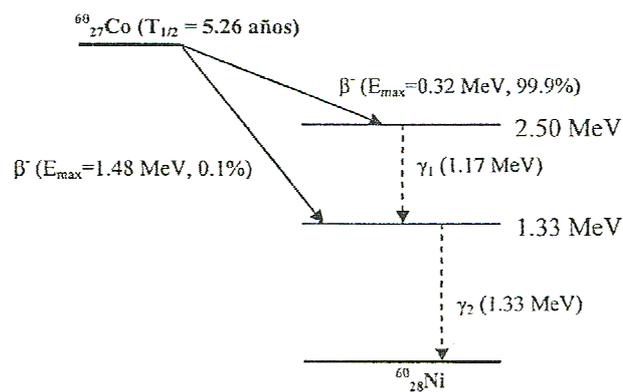
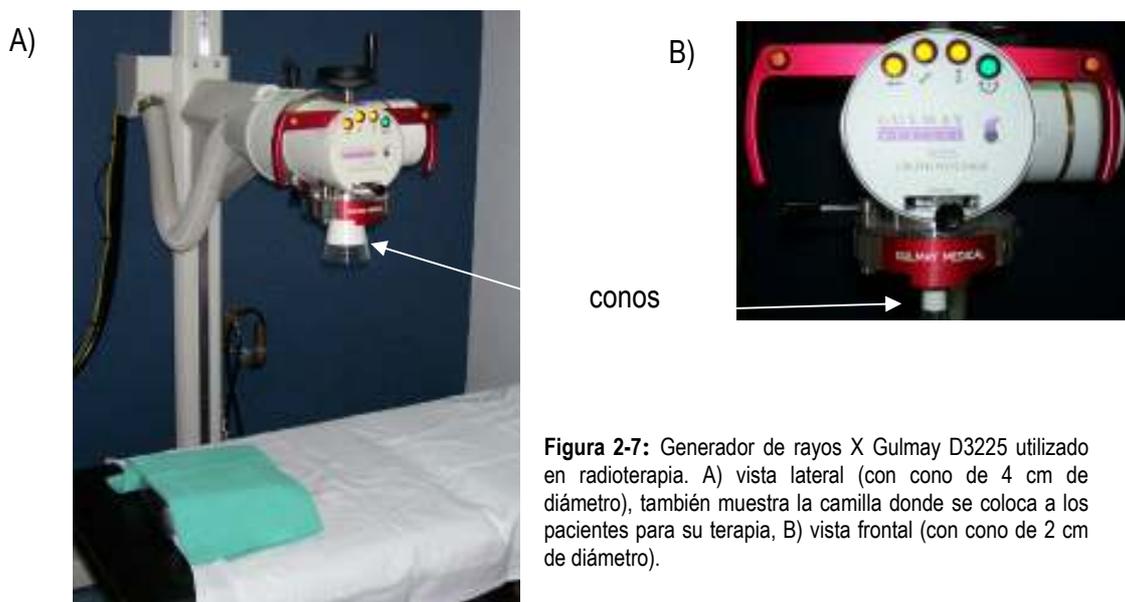


Figura 2-6: Esquema de decaimiento del  $^{60}\text{Co}$  [4].

## TERAPIA DE ORTOVOLTAJE

Este término es utilizado para describir tratamientos usando un tubo de rayos X que trabaja con potenciales desde 150 hasta 500 kV. La mayoría de los equipos de ortovoltaje (ver Figura 2-6) son operados entre 200 y 300 kV y 10 a 20 mA. Varios filtros han sido diseñados para mantener la HVL entre 1 y 4 mm de Cu. Pueden emplearse conos para colimar el haz en el tamaño deseado. La distancia fuente-superficie (SSD<sup>13</sup>) usualmente es de 50 cm. La máxima dosis ocurre cerca de la superficie de la piel con el 90% de tal valor a una profundidad de alrededor de 2 cm [8].



**Figura 2-7:** Generador de rayos X Gulmay D3225 utilizado en radioterapia. A) vista lateral (con cono de 4 cm de diámetro), también muestra la camilla donde se coloca a los pacientes para su terapia, B) vista frontal (con cono de 2 cm de diámetro).

## 2.5 INTERACCIÓN DE RADIACIÓN IONIZANTE CON LA MATERIA

Cuando un haz de partículas penetra en un medio, colisiona con los átomos del mismo. Durante las colisiones las partículas transfieren parte de su energía al medio, mientras que otra parte es dispersada en forma de calor. Algunas veces la interacción causa que los electrones sean separados del núcleo al que estaban ligados, creando así, un par de iones. El electrón libre constituye el ion negativo, mientras que el átomo al que le ha sido removido tal electrón, constituye el ion positivo.

---

<sup>13</sup> SSD por sus siglas en inglés "Source Surface Distance".

Este proceso se conoce como ionización. Se requieren al menos 34 eV (equivalente a  $5.4 \times 10^{-18}$  joules) para la creación de un par de iones en aire. Si el medio absorbedor en cuestión es algún tejido corporal, se depositará suficiente energía en las células como para destruir su capacidad reproductiva.

Las partículas cargadas tales como: electrones, protones y partículas alfa son conocidas como radiación directamente ionizante siempre que posean la suficiente energía cinética como para producir ionización mediante colisiones al penetrar la materia.

Las partículas no cargadas, como neutrones y fotones, son radiación indirectamente ionizante puesto que, liberan partículas directamente ionizantes al interactuar con la materia.

## 2.6 DESCRIPCION DE UN HAZ DE FOTONES

Un haz de rayos X emitido por un blanco o un haz de rayos gamma emitido por una fuente radiactiva consiste en un gran número de fotones con diferentes energías. Para describir un haz de fotones se definen los siguientes términos:

- *Fluencia de fotones* ( $\Phi$ ). Es el cociente

$$\Phi = \frac{dN}{da} \quad (2.2)$$

Donde  $dN$  es el número de fotones que entran en una esfera imaginaria de sección transversal  $da$ .

- *Tasa de fluencia o densidad de flujo* ( $\phi$ ). Es la fluencia por unidad de tiempo.

$$\phi = \frac{d\Phi}{dt} \quad (2.3)$$

- *Fluencia de energía* ( $\Psi$ ). Es el cociente

$$\Psi = \frac{dE_f}{da} \quad (2.4)$$

Donde  $dE_f$  es la suma de energías de todos los fotones que entran en una esfera de sección transversal  $da$ . Para un haz monoenergético se tiene que  $dE_f = dN \cdot hv$ , con  $hv$  la energía del fotón.

- *Tasa de fluencia de energía* o densidad de flujo de energía  $\psi$ , es la fluencia de energía por unidad de tiempo.

$$\psi = \frac{d\Psi}{dt} \quad (2.5)$$

### 2.6.1 ATENUACION DE UN HAZ DE FOTONES

Al hacer incidir un haz de fotones monoenergético en un absorbedor de un cierto espesor  $x$ , se observa que la reducción en el número de fotones ( $dN$ ) es proporcional al número de fotones incidentes ( $N$ ) y al grueso del absorbedor ( $dx$ ). De modo que es posible escribir

$$dN \propto Ndx$$

o

$$dN = -\mu Ndx \quad (2.6)$$

Donde  $\mu$  es una constante de proporcionalidad llamada coeficiente de atenuación. El signo menos significa que se trata de una relación decreciente, es decir, el número de fotones disminuye después de atravesar el material.

Se asume que en el caso ideal cada partícula es completamente absorbida en una sola interacción sin producir partículas cargadas secundarias o atraviesa la región irradiada sin alterar su energía o dirección [9].

Escrita en términos de la intensidad, la ecuación (2.6) puede escribirse como  $dI = -\mu I dx$ .

Y al resolver esta ecuación diferencial se obtiene

$$I(x) = I_o e^{-\mu x} \quad (2.7)$$

Donde  $I(x)$  es la intensidad transmitida después de que el haz ha atravesado un material absorbedor de espesor  $x$ , e  $I_o$  es la intensidad incidente en el absorbedor. Es decir, la intensidad del haz incidente decrece exponencialmente con la distancia.

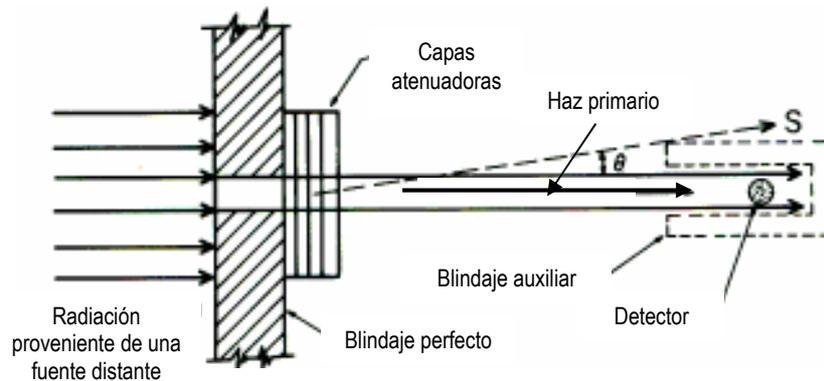
Si el espesor ( $x$ ) es expresado en unidades de longitud, por ejemplo: cm, entonces  $\mu$  es llamado coeficiente lineal de atenuación y tiene unidades de  $\text{cm}^{-1}$ . Otras veces hace referencia a  $\mu$  como el "coeficiente de atenuación de haz angosto" [9].

### GEOMETRÍA DE HAZ ANGOSTO

Los haces de fotones o neutrones interactúan con la materia mediante procesos que pueden generar tanto partículas cargadas como no cargadas, así como dispersión primaria,

con o sin pérdida de energía. Si se reduce la dispersión y la radiación secundaria que al medir, se dice que se aproxima a una atenuación de haz angosto. La atenuación de haz angosto puede lograrse mediante: 1) Discriminación de toda dispersión así como de partículas secundarias que alcancen un detector colocado a cierta distancia de la fuente o 2) Mediante la geometría de haz angosto que previene que cualquier tipo de dispersión o partículas secundarias cargadas alcancen tal detector [9].

La Figura 2-8 muestra los elementos esenciales de la geometría de haz angosto. Se logra colocando una fuente de radiación detrás de un blindaje con una ranura, de forma que el blindaje detenga toda la radiación incidente excepto la que pasa por la ranura. Se coloca inmediatamente después del blindaje un material atenuador en capas de forma que las partículas incidan prácticamente perpendicular a él. Un detector se coloca enfrente y suficientemente lejos del atenuador, de modo que cualquier partícula secundaria o dispersada  $S$  no alcance el detector. El haz se colima de forma que cubra el detector uniformemente y sólo partículas con un ángulo de  $\theta = 0^\circ$  alcancen el detector, de este modo se asegura que la dispersión o partículas cargadas generadas en el atenuador no puedan alcanzar el detector.



**Figura 2-8:** Geometría de haz angosto. El diámetro del haz primario es apenas lo suficientemente grande como para cubrir uniformemente el detector

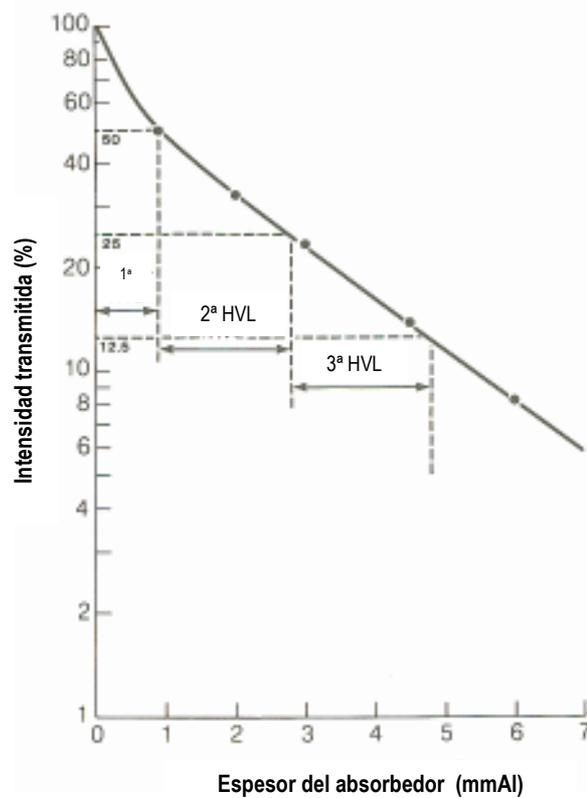
## 2.6.2 CAPA HEMIRREDUCTORA

La capa hemirreductora o HVL (por sus siglas en inglés: Half Value Layer) o  $H_{1/2}$  se define como el espesor ( $x$ ) que un material absorbedor debe tener para atenuar la intensidad de un haz incidente hasta la mitad de su valor original. Esto significa que si  $x = HVL$ , se tiene que  $I/I_o = 1/2$ , entonces, utilizando la ecuación (2.7) se obtiene.

$$HVL = 0.693 / \mu \quad (2.8)$$

Se observa que, mientras más pequeño es el valor de  $\mu$ , más grande es el valor de  $H_{1/2}$  y, por tanto, la radiación es más penetrante.

La atenuación exponencial se aplica estrictamente a haces monoenergéticos. Sin embargo, un haz producido por un generador de rayos X consiste en fotones con un espectro continuo de energías. En general, para un haz heterogéneo, la primera HVL es menor que las siguientes HVL (ver Figura 2-9). Cuando el espesor de la capa se incrementa, la energía promedio del haz transmitido también se incrementa o, dicho de otro modo, el haz se vuelve más duro (penetrante). De este modo, incrementando la filtración de un haz de rayos X, se puede incrementar su poder de penetración o la HVL del haz[8].



**Figura 2-9:** Esquema que muestra la transmisión de un haz de rayos X con un espectro de energías de fotones a través de un absorbedor de aluminio. 1ª HVL 0.99 mmAl, 2ª HVL=1.9 mmAl, 3ª HVL=2.0 mmAl.

### 2.6.3 COEFICIENTES

En el contexto de radiación indirectamente ionizante, la palabra interacción se aplica a procesos en los que la energía y/o la trayectoria de la radiación es alterada. Tales procesos son aleatorios y, por tanto, sólo es posible hablar de la probabilidad de que ocurra una interacción. Ésta probabilidad puede ser expresada en términos de secciones transversales o de varios coeficientes de interacción[10].

## COEFICIENTES DE ATENUACIÓN

En general, *el coeficiente lineal de atenuación*  $\mu$  depende de la energía de los fotones y de la naturaleza del material. El coeficiente lineal de atenuación representa la probabilidad de que ocurra alguna interacción, por unidad de longitud.

Puesto que la atenuación producida por un material de espesor  $x$  depende del número de electrones presentes en dicho espesor,  $\mu$  depende del número atómico ( $Z$ ) y de la densidad del material. Para evitar esta dependencia con la densidad se define el *coeficiente másico de atenuación*  $\mu/\rho$ , que únicamente depende de la naturaleza del material en cuanto a su número atómico. Sus unidades son  $\text{cm}^2/\text{g}$ . Al utilizar este coeficiente en la ecuación (2.7) el espesor debe ser expresado como  $\rho x$ , que tiene unidades de  $\text{g}/\text{cm}^2$ . Entonces la ecuación (2.7) puede reescribirse como:

$$I(x) = I_o e^{-(\mu/\rho)\rho x} \quad (2.9)$$

Así, la atenuación del haz únicamente estará determinada por el tipo de moléculas del material y no por su densidad.

Se debe hacer énfasis en que el coeficiente de atenuación representa la fracción de fotones que han interactuado con el material. Estos fotones han transferido parte de su energía al material y como consecuencia, parte, o la totalidad de la energía ha sido absorbida. Entonces, debe entenderse que, la intensidad  $I(x)$  en las ecuaciones (2.7) y (2.9) se debe a los fotones que no interactuaron con el material.

## COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

Cuando un fotón interactúa con un electrón del material puede transferirle parte o la totalidad de su energía. Si le transfiere sólo una parte, un nuevo fotón<sup>14</sup> de menor energía podría volver a interactuar con otros electrones. De este modo, un fotón puede interactuar más de una vez con los electrones del material, interacciones durante las cuales la energía perdida por el fotón es convertida en energía cinética de los electrones.

La fracción de la energía transferida a las partículas cargadas, por unidad de espesor del absorbedor, está dada por el coeficiente de transferencia de energía ( $\mu_{tr}$ ).

---

<sup>14</sup> Puesto que los fotones se diferencian unos de otros por su energía, un fotón que ha perdido parte de su energía ya no es el mismo, sino uno distinto con menor energía.

$$\mu_{tr} = \frac{\bar{E}_{tr}}{h\nu} \mu \quad (2.10)$$

Donde  $\bar{E}_{tr}$  es la energía promedio transferida a las partículas cargadas en forma de energía cinética por interacción y  $h\nu$  la energía del fotón.

El coeficiente másico de transferencia de energía está dado por  $\mu_{tr}/\rho$  [8].

### COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE ENERGÍA

La mayoría de los electrones puestos en movimiento por los fotones pierden la mayor parte de su energía en colisiones inelásticas (ionización y excitación) con los electrones atómicos del material y sólo perderán una pequeña parte mediante *bremsstrahlung* al interactuar con el núcleo. La energía perdida como *bremsstrahlung* en general sale del volumen local de interés en forma de rayos X y no es incluida en el cálculo de la energía absorbida localmente.

El coeficiente de absorción de energía ( $\mu_{en}$ ) se define como

$$\mu_{en} = \mu_{tr}(1 - g) \quad (2.11)$$

en donde  $g$  es la fracción de energía de las partículas secundarias cargadas que es perdida en forma de *bremsstrahlung* en el material.

También se define el coeficiente másico de absorción de energía ( $\mu_{en}/\rho$ ).

Para la mayoría de las interacciones que involucran tejidos suaves ( $Z_{prom} = 7.64$ ) o de bajo número atómico, en las que los electrones pierden energía casi totalmente debido a ionizaciones, la componente debido a *bremsstrahlung* es despreciable, por lo que  $\mu_{en} = \mu_{tr}$  [8].

El coeficiente de absorción de energía es una cantidad importante en radioterapia en cuanto que permite hacer una evaluación de la energía absorbida por los tejidos y predecir así, los efectos biológicos de la radiación.

## 2.7 INTERACCIÓN DE LOS FOTONES CON LA MATERIA

Los rayos X y los rayos gamma son radiación indirectamente ionizante. Cuando éstos pasan a través de la materia son absorbidos mediante diversos procesos que ponen a los electrones del material absorbedor en movimiento. Estos electrones transfieren su energía

produciendo ionización y excitación de otros átomos o moléculas a lo largo de sus trayectorias [8].

La atenuación de un haz de fotones por un material absorbedor es causada, principalmente, por tres tipos de interacciones, a saber: efecto fotoeléctrico, efecto Compton y producción de pares. La intensidad de este haz de fotones se ve reducida en cierta medida por las propiedades físicas del material a través del cual pasa el haz, en otras palabras, cada uno de estos procesos de interacción puede ser representado por un coeficiente másico de atenuación, el cuál varía de modo particular con la energía del fotón y con el número atómico del material absorbedor.

Veamos, de modo general, en que consisten estas tres interacciones.

### 2.7.1 EFECTO COMPTON

En este proceso, un fotón con energía  $h\nu$  (con longitud de onda  $\lambda$  y momento  $h\nu/c$ ) colisiona con un electrón libre. El término libre significa que la energía de enlace del electrón es mucho menor que la energía del fotón incidente. El fotón transfiere parte de su energía al electrón desviándolo un ángulo  $\theta$ , mientras que un nuevo fotón (con menor energía) será desviado un ángulo  $\Phi$  (Figura 2-10).

El efecto Compton puede analizarse en términos de colisiones entre dos partículas, un fotón y un electrón. Aplicando las leyes de conservación del momento y la energía se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$h\nu' = \frac{h\nu}{1 + (h\nu/m_0c^2)(1 - \cos\phi)} \quad (2.12)$$

$$\cot\theta = \left(1 + \frac{h\nu}{m_0c^2}\right) \tan\left(\frac{\phi}{2}\right) \quad (2.13)$$

en donde  $m_0c^2 = 0.511$  MeV es la energía de la masa del electrón en reposo y  $h\nu, h\nu'$  son las energías del fotón incidente y dispersado, respectivamente.

Se observa en la ecuación (2.12) que para un valor dado de  $h\nu$ , la energía  $h\nu'$  y el ángulo  $\Phi$  del fotón dispersado están correlacionados uno con otro [9].

Puesto que las interacciones Compton involucran esencialmente electrones *libres* en el material absorbedor, es independiente del número atómico  $Z$ . Entonces, se sigue que el coeficiente másico de atenuación Compton ( $\sigma/\rho$ ) depende únicamente del número de electrones *libres* por gramo o densidad electrónica [8].

En otras palabras, mientras mayor es la energía de los fotones incidentes, mayor es la probabilidad de que esta energía exceda la energía de enlace de los electrones. Por lo que la proporción de interacciones que involucren electrones libres se incrementará cuando la energía de la radiación incidente se incremente. Sin embargo, mientras mayor es el número atómico del átomo bombardeado, más firmemente estarán ligados los electrones por fuerzas electrostáticas[11], por esta razón, el número de electrones *libres* se dice que disminuye al incrementarse  $Z$ , y es también por esto que, al aumentar la energía del haz de fotones incidente, si se incrementa el número atómico  $Z$ , la probabilidad de que ocurra el efecto Compton disminuye.

Para medios de bajo  $Z$  (e.g., carbón, aire, agua, tejidos humanos ( $Z_{\text{prom}} = 7.64$ )) la región en que domina el efecto Compton es amplia, se extiende desde aproximadamente 20 keV hasta 30 MeV. Ésta disminuye gradualmente al incrementarse  $Z$  [9].

En resumen, si la energía del haz se encuentra dentro de la región en donde el efecto Compton es la interacción más probable, entonces ocurrirá aproximadamente la misma atenuación del haz para cualquier material con el mismo espesor másico<sup>15</sup> [8].

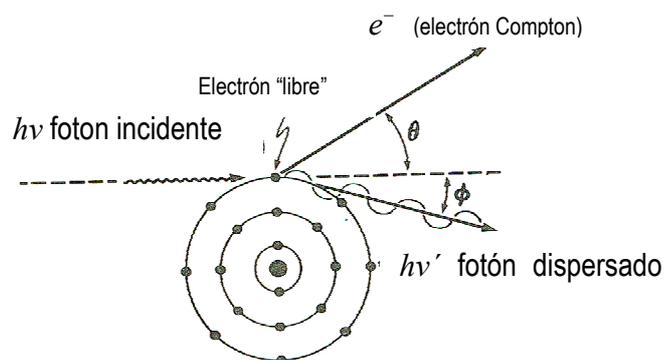


Figura 2-10: Efecto Compton

## 2.7.2 EFECTO FOTOELÉCTRICO

El efecto fotoeléctrico es el proceso en el cual un fotón interactúa con un átomo expulsando uno de sus electrones orbitales de las capas electrónicas K, L, M o N. En este

<sup>15</sup> El espesor másico es el espesor lineal multiplicado por la densidad, i.e.  $\text{cm g/cm}^3 = \text{g/cm}^2$ .

proceso, toda la energía del fotón ( $h\nu$ ) es transferida al electrón atómico; parte de la energía del fotón es usada para vencer la energía de enlace del electrón y el resto de la energía es otorgada al electrón en forma de energía cinética (Figura 2-11). La energía cinética del electrón expulsado (llamado fotoelectrón) es:

$$T = \frac{1}{2}mv^2 = h\nu - E_b \quad (2.14)$$

en donde  $E_b$  es la energía de enlace del electrón.

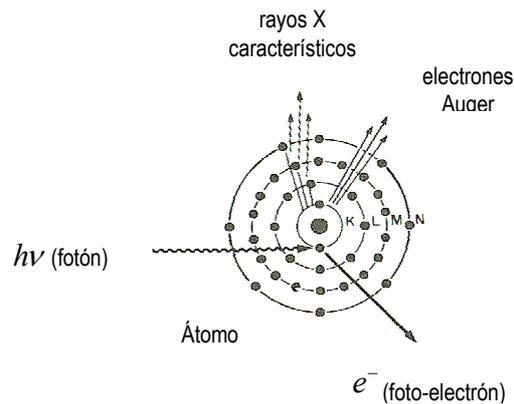


Figura 2-11: Efecto fotoeléctrico

Después de que el electrón ha sido expulsado del átomo, se crea una vacancia en la capa electrónica, dejando así al átomo en un estado excitado. Tal vacancia puede ser llenada por un electrón orbital de las capas electrónicas externas, dando como resultado la emisión de rayos X característicos.

La ecuación (2.14) es solo una primera aproximación a la fracción total de la energía  $E = h\nu$  que es transferida a los electrones. La energía de enlace  $E_b$  debe ser tomada en cuenta puesto que parte, o toda ésta es convertida en energía cinética a través de efecto Auger. El efecto Auger provee un mecanismo alternativo por el cual un átomo puede liberar cualquier parte de la energía que no haya sido emitida como radiación característica. En este efecto el átomo emplea la energía que no se emitió como radiación característica para expulsar uno o más de sus electrones proveyéndolo con suficiente energía cinética como para eliminar el exceso de energía [9].

La probabilidad de una absorción fotoeléctrica depende de la energía del fotón incidente, de modo que, el coeficiente másico de atenuación fotoeléctrico ( $\tau/\rho$ ) varía con la energía del fotón incidente y, además, depende fuertemente del número atómico del material

absorbedor, por tanto, se tiene que  $\tau/\rho \propto Z^3/E^3$ . De lo anterior se puede inferir que los materiales con un número atómico alto son buenos absorbedores de fotones, por tanto, son ampliamente usados para delimitar el haz y para procesos de protección radiológica, particularmente con fotones de baja energía[8]. Para que una absorción fotoelectrónica ocurra, la energía del fotón incidente no debe ser menor que la energía de enlace del electrón, además, la probabilidad de absorción fotoeléctrica tiene su máximo cuando la energía del fotón y la energía de enlace del electrón son iguales.

### 2.7.3 PRODUCCIÓN DE PARES

Si la energía del fotón incidente ( $h\nu$ ) es mayor que 1.022 MeV, el fotón interactuará fuertemente con el campo electromagnético de un núcleo atómico otorgándole toda su energía para crear un par que consiste en un electrón negativo ( $e^-$ ) y uno positivo ( $e^+$ ) llamado positrón. Puesto que, la energía de un electrón en reposo es de 0.511 MeV, se requiere una energía mínima de 1.022 MeV para crear un par. Si la energía del fotón excede este valor, el resto de la energía se repartirá entre las dos partículas creadas en forma de energía cinética (Figura 2-12).

El fotón incidente ( $h\nu$ ) cede toda su energía en la creación de un par electrón-positrón con energías cinéticas  $T^-$  y  $T^+$  [9]. La ecuación de conservación de energía, ignorando la mínima energía cinética cedida al núcleo, es simplemente:

$$h\nu = 1.022\text{MeV} + T^- + T^+ \quad (2.15)$$

La energía cinética total disponible para el par electrón-positrón es:  $(h\nu - 1.022)\text{MeV}$ .

Puesto que este proceso resulta de una interacción con el campo electromagnético del núcleo, la probabilidad de que ocurra se incrementa rápidamente con el número atómico. El coeficiente másico de atenuación para la creación de pares ( $\kappa/\rho$ ) varía como  $Z$ .

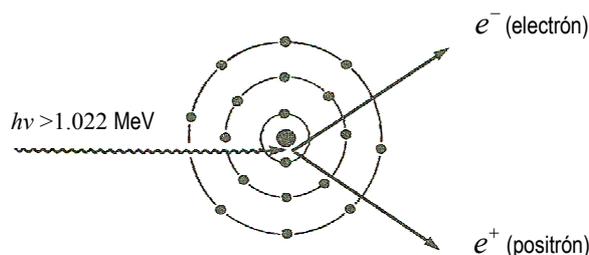


Figura 2-12: Producción de pares

## 2.7.4 IMPORTANCIA RELATIVA DE LOS TRES TIPOS DE INTERACCIONES

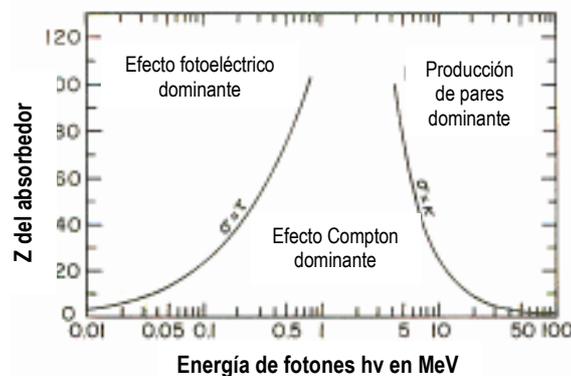
Debido a que cada uno de los procesos de interacción ocurre independientemente de los otros, el *coeficiente másico de atenuación total* ( $\mu/\rho$ ) es la suma de los coeficientes individuales:

$$(\mu/\rho) = (\tau/\rho) + (\sigma/\rho) + (\kappa/\rho) \quad (2.16)$$

Total      fotoeléctrico      compton      pares

La Figura 2-13 indica las regiones para Z y para la energía de los fotones en donde predomina cada interacción. Las curvas indican cuando dos tipos de interacciones son igualmente probables. Se observa que el efecto fotoeléctrico es dominante en la región de bajas energías de fotones, el efecto Compton se presenta para energías medias y la producción de pares para altas energías.

Para energías de fotones lo suficientemente bajas y medios de número atómico alto, el coeficiente másico de atenuación es alto debido a que la absorción fotoeléctrica, que depende de Z como  $\tau/\rho \propto Z^3/E^3$ , predomina sobre los otros procesos de absorción. El coeficiente de atenuación decrece rápidamente con la energía hasta que la energía del fotón incidente excede la energía de enlace del electrón atómico, donde el efecto Compton es el modo de interacción predominante. En esta región el coeficiente másico es aproximadamente el mismo para diversos elementos debido a que el efecto Compton es independiente del número atómico. Nuevamente el coeficiente másico de atenuación disminuye hasta que, el proceso de producción de pares se vuelve importante, esto es, cuando la energía del fotón alcanza unos cuantos MeV (superior a 1.022 MeV).



**Figura 2-13:** Importancia relativa de los tres tipos de interacciones. Las curvas muestran los valores de Z y E para los cuales los dos tipos de efectos son igualmente probable.

La Figura 2-14 muestra los coeficientes másicos de atenuación para carbono.

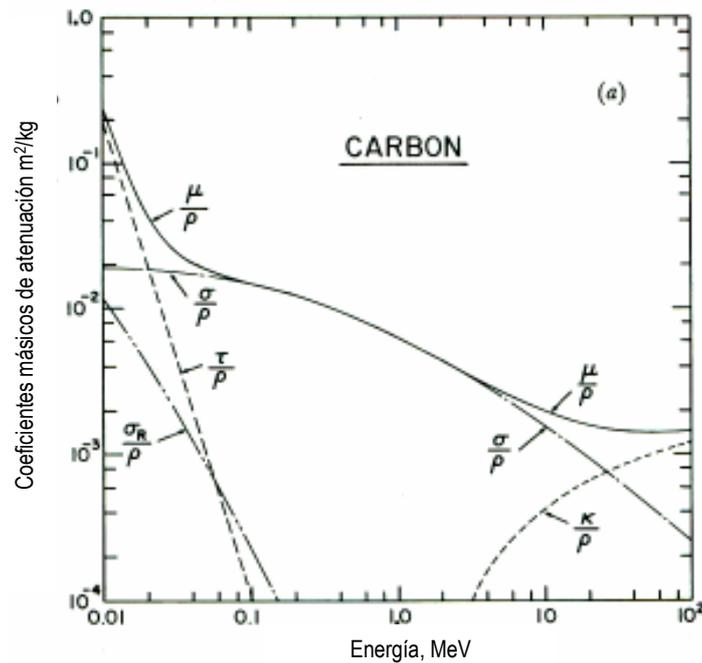


Figura 2-14: Coeficientes másicos de atenuación para carbón.  $\tau/\rho$  indica la contribución del efecto fotoeléctrico,  $\sigma/\rho$  la del efecto Compton,  $\kappa/\rho$  la de producción de pares y  $\sigma_R/\rho$  la de dispersión coherente<sup>16</sup>.  $\mu/\rho$  es la suma de todos los anteriores.

### 2.7.5 EQUILIBRIO DE PARTÍCULA CARGADA

Se dice que existe equilibrio de partícula cargada (EPC) en un volumen  $v$  si cada partícula cargada de un determinado tipo y energía que abandona tal volumen es remplazada por otra partícula idéntica que entra [9]. En otras palabras, la energía que entra y sale del volumen  $v$  esta balanceada tanto por la radiación directamente ionizante como por la indirectamente ionizante que entra y sale del volumen  $v$  en cuestión. Esto se puede expresar de la siguiente manera:

$$(\bar{R}_{in})_u = (\bar{R}_{out})_u \quad \text{y} \quad (\bar{R}_{in})_c = (\bar{R}_{out})_c$$

Donde  $R_{in}$  y  $R_{out}$  es la energía radiante que entra y que sale, y los subíndices  $u$  y  $c$  se refieren a las partículas no cargadas y cargadas, respectivamente. Las barras sobre las  $R$  indican que se trata del valor esperado [9].

<sup>16</sup> Para una explicación detallada de éste efecto de interacción ver: Attix, F. H *Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry*. 1986, New Cork.

En la Figura 2-15 se muestra un volumen  $V$  dentro del cual se encuentra un volumen  $v$  más pequeño. Se requiere que las fronteras de  $v$  y  $V$  estén separadas por al menos la distancia máxima de penetración para cualquier partícula secundaria cargada presente. Se dirá que existe EPC en  $v$  si se satisfacen las siguientes condiciones sobre  $V$ : la composición y densidad del medio deben ser homogéneas, debe existir un campo homogéneo de radiación indirectamente ionizante (i.e. la atenuación de los rayos al pasar a través del medio debe ser despreciable) y no deben estar presentes campos eléctricos o magnéticos no homogéneos.

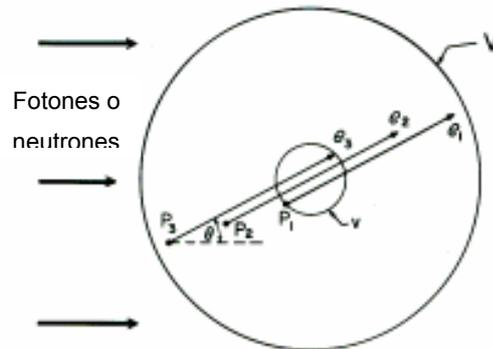


Figura 2-15: Principio de equilibrio de partícula cargada.

Un caso simplificado se muestra en la Figura 2-15 para trayectorias rectas de partículas cargadas, todas emitidas a un ángulo  $\theta$  respecto al haz mono-direccional primario. Considérese la trayectoria de la partícula  $e_1$ , generada por la absorción total de un rayo indirectamente ionizante en el punto  $P_1$  en la frontera de  $v$ . La partícula  $e_1$  cruzará  $v$  llevando fuera de éste, digamos  $2/3$  de su valor original. Una segunda interacción idéntica ocurrirá en un punto  $P_2$  generando una partícula cargada  $e_2$  que entrará en  $v$  con  $2/3$  del valor original de su energía y dejará dentro de este volumen  $1/3$  de su energía. Del mismo modo, una tercera interacción en  $P_3$  generará una partícula  $e_3$  que entrará en  $v$  con  $1/3$  del valor original de su energía dejando toda su energía dentro de éste volumen. De este modo la energía depositada en  $v$  por las tres partículas iguala aquella que hubiese dejado  $e_1$  si su trayectoria entera hubiese estado dentro de  $v$ , entonces se dice que existe EPC [9].

## 2.8 DOSIMETRÍA DE LA RADIACIÓN

### 2.8.1 EXPOSICIÓN

La exposición  $X$  es el cociente de  $dQ$  por  $dm$  donde  $dQ$  es el valor absoluto de la carga total de iones de un signo producida en aire cuando todos los electrones liberados por fotones en una masa de aire  $dm$  son completamente detenidos en aire.

$$X = \frac{dQ}{dm} \quad (2.17)$$

sus unidades en el Sistema Internacional de unidades (SI) son C/kg. También se utiliza el Roentgen (R) cuya equivalencia es  $1 \text{ R} = 2.58 \times 10^{-4} \text{ C/kg}$ . La exposición es aplicable únicamente a radiación X y  $\gamma$ , y es una medida de la ionización del aire que no se utiliza para energías de fotones superiores a 3 MeV debido a las dificultades prácticas que complican su medición.

Las ionizaciones producidas por reabsorción de bremsstrahlung no deben incluirse en  $dQ$  [9], por lo que se utiliza el coeficiente másico de absorción de energía  $\mu_{en}/\rho$ .

La energía liberada por una partícula cargada por unidad de masa de aire que es subsecuentemente reabsorbida es  $\Psi(\mu_{en}/\rho)_{air}$ , donde  $\Psi$  es la fluencia de energía. Si la energía promedio requerida para producir un par de iones en aire es  $W_{air} = 33.97 \text{ eV}$ , entonces el número de pares de iones por unidad de masa será  $\Psi(\mu_{en}/\rho)_{air} / W_{air}$  y la carga  $Q$  producida por unidad de masa es  $\Psi(\mu_{en}/\rho)_{air} e / W_{air}$

Donde  $e$  es la carga del electrón [10]. Entonces es posible escribir la exposición como

$$X = \frac{dQ}{dm} = \Psi \left( \frac{\mu_{en}}{\rho} \right)_{air} \frac{e}{W_{air}} \quad (2.18)$$

### 2.8.2 KERMA

El kerma puede ser definido en términos de la energía transferida  $\varepsilon_{tr}$  y la energía radiante  $R$ . La energía transferida en un volumen es:

$$\varepsilon_{tr} = (R_{in})_u + (R_{out})_u^{nonr} + \sum Q \quad (2.19)$$

Donde  $(R_{in})_u$  = energía radiante de las partículas no cargadas entrando en un volumen  $V$

$(R_{out})_u^{nonr}$  = energía radiante de las partículas no cargadas saliendo de un volumen  $V$ , excepto aquellas que se originan por pérdidas radiativas de energía cinética por las partículas cargadas dentro del volumen  $V$ , y

$\Sigma Q$  = energía neta derivada de la masa en reposo en el volumen V

Por pérdidas radiativas se entiende una conversión de la energía cinética de las partículas cargadas a energía de fotones, a través de la producción de rayos X mediante bremsstrahlung o mediante aniquilación de positrones. La energía radiante se define como la energía de las partículas emitida, transferida o recibida[9].

La energía transferida es sólo la energía cinética recibida por las partículas cargadas liberada por fotones en un volumen específico V. Entonces es Kerma ( $K$ ), también se define como:

$$K = \frac{d\varepsilon_{tr}}{dm} \quad (2.20)$$

donde  $d\varepsilon_{tr}$  es la suma de la energía cinética inicial de todas las partículas ionizantes (electrones y positrones) liberadas por las partículas no cargadas (fotones) en un material de masa  $dm$ .

El kerma es el valor esperado de la energía transferida a las partículas cargadas por unidad de masa en un punto de interés, incluyendo pérdidas radiativas de energía pero excluyendo la energía transferida de una partícula cargada a otra [9].

El kerma puede expresarse en unidades de  $erg/g, rad, J/kg$ , la última unidad es también llamada gray ( $Gy$ ), estas unidades están relacionadas de la siguiente manera

$$1 Gy = 1 J/kg = 10^2 rad = 10^4 erg/g \quad (2.21)$$

Para un haz de fotones que atraviesa un medio, el Kerma en un punto es directamente proporcional a la fluencia de energía de fotones  $\Psi$

$$K = \Psi \left( \frac{\bar{\mu}_{tr}}{\rho} \right) \quad (2.22)$$

donde  $\bar{\mu}_{tr}/\rho$  es el coeficiente másico de transferencia de energía. Entonces, según la ecuación (2.11) es posible escribir

$$K = \Psi \frac{(\bar{\mu}_{en}/\rho)}{1-g} \quad (2.23)$$

donde  $\bar{g}$  es la fracción promedio de la energía de un electrón perdida en procesos radiativos.

Entonces, despejando  $\Psi$  de la ecuación (2.18) y sustituyéndolo en la ecuación (2.23) y utilizando la ecuación (2.11), es posible escribir:

$$K = \frac{XW_{air}}{e} \left( \frac{\bar{\mu}_{tr}/\rho}{\bar{\mu}_{en}/\rho} \right)_{air} = \frac{XW_{air}/e}{1-g} \quad (2.24)$$

Donde se muestra que la exposición es el equivalente de la ionización del kerma en aire, esto es, la ionización por unidad de masa de aire resultado de la transferencia de energía por unidad de masa de aire. Se observa que, cualquier ionización que sea resultado de bremsstrahlung no debe ser incluida en la medición[8].

### 2.8.3 DOSIS ABSORBIDA

La dosis absorbida ha sido definida para describir la cantidad de radiación para cualquier tipo de radiación ionizante, incluidas partículas cargadas y no cargadas, todos los materiales y energías.

La dosis absorbida  $D$  puede ser definida en términos de la energía impartida  $\varepsilon$ . La energía impartida por la radiación ionizante a una masa  $m$  en un volumen finito  $V$  se define como:

$$\varepsilon = (R_{in})_u - (R_{out})_u + (R_{in})_c - (R_{out})_c + \sum Q \quad (2.25)$$

Donde  $(R_{in})_u$  = energía radiante de las partículas no cargadas entrando en un volumen  $V$

$(R_{out})_u$  = energía radiante de las partículas no cargadas saliendo de un volumen  $V$

$(R_{in})_c$  = energía radiante de las partículas cargadas entrando a  $V$

$(R_{out})_c$  = energía radiante de las partículas cargadas saliendo de  $V$

$\sum Q$  = energía neta derivada de la masa en reposo en el volumen  $V$

La dosis absorbida (o simplemente dosis) en un punto  $P$  dentro de un volumen  $V$  se define como el cociente

$$D = \frac{d\varepsilon}{dm} \quad (2.26)$$

La dosis absorbida  $D$  es el valor esperado de la energía depositada en la materia por unidad de masa en un punto  $P$ .  $D$  representa la energía por unidad de masa que

permanece en la materia en un punto  $P$ , por tanto, puede dar una idea de los efectos biológicos significativos producidos por la radiación ionizante [9].

Su unidad antigua era el rad y representaba la absorción de 100 erg de energía por gramo de material absorbedor.

$$1 \text{ rad} = 100 \text{ erg} / \text{g} = 10^{-2} \text{ J} / \text{kg}$$

En el SI la unidad para la dosis absorbida es el gray ( $Gy$ ) de modo que

$$1 \text{ Gy} = 1 \text{ J} / \text{kg} = 100 \text{ rad} \quad (2.27)$$

#### 2.8.4 TASA DE EXPOSICIÓN

La tasa de exposición en un punto  $P$  a un tiempo  $t$  es

$$\dot{X} = \frac{dX}{dt} \quad (2.28)$$

y puede usarse para determinar la exposición  $X$  para cualquier tiempo dentro de un periodo extendido de radiación. Entonces proporcionando la tasa de exposición como función del tiempo  $\dot{X}(t)$  se puede obtener la exposición entre dos intervalos de tiempo  $t_0$  y  $t$ .

$$X = \int_{t_0}^t \dot{X}(t) dt \quad (2.29)$$

Sus unidades son  $C/kg \cdot s$  o  $R/s$  [9].

### 2.9 DOSIMETRÍA CON PELICULAS DE TINTE RADIOCRÓMICO

La dosimetría se refiere a la cuantificación de la energía depositada por la radiación ionizante en el medio de interés. Tal cuantificación se realiza utilizando dosímetros. Un dosímetro es un dispositivo que provee una medida de la dosis absorbida en un volumen de interés, debe ser estable bajo condiciones ambientales, sencillo de manejar y fácil de preparar. Su respuesta a la radiación debe ser proporcional a la dosis en un amplio intervalo, independiente de la rapidez de la dosis, de la energía de la radiación y de factores ambientales, además debe ser reproducible[9].

Los sistemas dosimétricos convencionales como cámaras de ionización, semiconductores, detectores termoluminiscentes (TLD) y películas radiográficas presentan ciertos inconvenientes, entre los que se pueden contar; resolución espacial insuficiente, diferencias

considerables en la sensibilidad que dependen de la energía del haz de fotones, absorción de energía que no corresponde con la de los tejidos biológicos, además de presentar sensibilidad a la luz artificial y/o de requerir algún procesamiento químico previo a su lectura, mismo que puede influir en los resultados dosimétricos. Estas dificultades fueron resueltas parcialmente por las películas de tinte radiocrómico (PTR), ya que presentan una resolución espacial alta y no requieren procesos de revelado (puesto que adquieren cierta coloración al ser expuestas a la radiación), proporcionan valores absolutos para las dosis absorbidas con precisión aceptable, además de ser de fácil manejo y análisis [12].

Las PTR han sido utilizadas en los últimos años para medir la dosis absorbida en diversas aplicaciones incluidas aplicaciones médicas. Consisten en una capa radiocrómica, cubierta en ambos lados por una base de poliéster, que responde a la luz ultravioleta y a la radiación ionizante [12]. Sus características incluyen coeficientes máscicos de absorción de energía similares a los del agua ( $\mu/\rho = 2.055 \text{ m}^2/\text{kg}$ ) y tejido suave ( $\mu/\rho = 2.045 \text{ m}^2/\text{kg}$ ).

### **PELÍCULA RADIOCRÓMICA DOSIMÉTRICA GAFCHROMIC® HS [13]**

La película HS está diseñada para medir la dosis absorbida para fotones de alta energía. Antes de ser irradiadas las PTR son incoloras. Cuando el componente activo de la HS es expuesto a la radiación, reacciona formando un polímero azul con una absorción máxima a 615 nm y 675 nm. La coloración azul aumenta al incrementarse la dosis absorbida, sin que sea necesario algún procesamiento químico.

La capa activa de la película HS es de aproximadamente 40  $\mu\text{m}$  de espesor y está colocada entre dos hojas de poliéster claro y transparente cada una de 97  $\mu\text{m}$ . La película HS presenta una densidad óptica neta<sup>17</sup> independiente de la energía que es esencialmente lineal a dosis superiores a 30 Gy, también muestra una respuesta similar a varios tipos de radiación en el rango de Megavoltajes (por ejemplo: rayos X de 6 Mev y rayos gamma de <sup>60</sup>Co). En los estudios realizados a esta película se encontró que no existe diferencia en su respuesta cuando se aplica una sola dosis o dosis fraccionadas y que es independiente de la tasa de dosis. En los primeros minutos posteriores a la exposición de la HS se manifiesta un crecimiento significativo en la densidad óptica neta, lo que corresponde a un incremento de la concentración del polímero dentro de la capa activa. No obstante, la tasa de cambio de la

---

<sup>17</sup> Densidad óptica neta: cambio en la densidad óptica debido a la dosis de radiación.

absorción disminuye rápidamente con el tiempo. Así, la absorción óptica alcanza un valor prácticamente constante en los 2 días posteriores a la irradiación. Los cambios se tornan muy lentos pasadas 24 horas desde la irradiación. El componente activo de la HS no es particularmente sensible a la luz blanca visible, aunque comparativamente es más sensible a longitudes de onda cortas que a las largas. Se considera que la intensidad de los bulbos de luz blanca fluorescente en el interior de laboratorios y oficinas oscila entre los 600 lx a 1000 lx<sup>18</sup>, tomando en cuenta esto, estudios realizados a la HS mostraron que puede ser manejada bajo iluminación normal (1000 lx) por varias horas (hasta 24 h) sin efectos notables. No obstante, se sugiere no dejar la película expuesta a la luz indefinidamente y almacenarla en la oscuridad mientras no se utilice[14].

Las propiedades de la película radiocrómica dosimétrica Gafchromic® HS se resumen en la Tabla 2-1 [14]

Para determinar la dosis absorbida por las películas, generalmente se utilizaba un espectrofotómetro; en este instrumento se hace pasar luz de cierta longitud de onda a través de la película para después medir la cantidad de luz que logra transmitirse. También se han usado densitómetros, aunque, recientemente se han utilizado escáneres de luz blanca. El procedimiento con el escáner es similar al del espectrofotómetro: se hace incidir luz blanca sobre la película y un sistema óptico dirige la luz transmitida o reflejada a través de la película hacia detectores y después envía la información hacia una computadora en cuya pantalla se puede visualizar y procesar la imagen de la película digitalizada.

Para determinar la respuesta de las PTR se define la densidad óptica.

## DENSIDAD ÓPTICA

Cuando una PTR es expuesta a radiación ionizante ocurre un cambio en su coloración, que la vuelve más oscura, a causa de un proceso de polimerización. El oscurecimiento de su apariencia trae consigo la atenuación de la luz que la atraviesa y es una medida de su densidad óptica (DO). Una suposición fundamental en la dosimetría de películas es que la dosis de la película se ve reflejada en la densidad óptica resultante de tal película. Esta relación puede expresarse como sigue [4]:

$$DO = \log_{10} \left[ \frac{I_0}{I} \right] \quad (2.30)$$

---

<sup>18</sup> El lux (símbolo lx) es la unidad derivada del sistema internacional de unidades (SI) de iluminancia o nivel de iluminación. Es igual a un lumen /m<sup>2</sup>, donde el lumen (símbolo: lm) es la unidad del SI para medir la cantidad de luz que emite un foco por segundo y en todas direcciones, conocida como flujo luminoso.

donde  $I_o$  es la intensidad de la luz si no hay película presente e  $I$  es la intensidad de la luz después de pasar a través de la película. Se debe notar que, puesto que  $[I_o/I]$  tiene un comportamiento exponencial con la dosis, entonces, la densidad óptica tiene una relación lineal con la dosis [15].

La respuesta  $R$  de las PTR se define como:

$$R = \text{Log}_{10} \left( \frac{C_{ni}}{C_i} \right) \quad (2.31)$$

donde  $C_{ni}$  y  $C_i$  son las intensidades de algún color de la película sin irradiar y la película irradiada, respectivamente[16].

**Tabla 2-1:** Propiedades de la película radiocrómica dosimétrica Gafchromic® HS

Propiedad	Película Radiocrómica Dosimétrica Gafchromic® HS
Configuración	Capa activa entre dos estratos de poliéster de 97 µm cada uno
Espesor de la capa activa	40 µm
Respuesta sensitométrica	Densidad neta <sup>6</sup> de 0.80 a 10 Gy y 2.15 a 30 Gy
Dependencia de la energía	Diferencia <5% en la densidad neta <sup>6</sup> para exposiciones de 20 Gy a 1 MeV y 18 MeV
Respuesta a dosis fraccionadas	Diferencia <5% en la densidad neta <sup>6</sup> para una sola dosis de 30 Gy y cinco dosis anulativas de 6 Gy con 30 min de intervalo entre cada una
Respuesta a la tasa de dosis	Diferencia <5% en la densidad neta <sup>6</sup> para exposiciones en tasas de 3.4 Gy/min y 0.034 Gy/min
Estabilidad con la luz	Cambio <0.01 en la densidad por 1000 lx/día
Estabilidad en la oscuridad (pre-exposición)	<0.5x10 <sup>-3</sup> cambio en la densidad/día a 23°C <0.2x10 <sup>-3</sup> cambio en la densidad/día bajo refrigeración
Uniformidad para la misma hoja	Diferencia en la respuesta sensitométrica <6%
Uniformidad hoja-a-hoja	Diferencia en la respuesta sensitométrica de la media <5%
Uniformidad lote-lote	Diferencia en la respuesta sensitométrica de la media <10%
Crecimiento de la densidad Post-exposición	<12% desde 1 h hasta 1 día posterior a la exposición; <2% desde 1 día hasta 4 días después de la exposición.

### 3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Todos los protocolos con animales reportados en el presente trabajo fueron realizados de acuerdo con los procedimientos establecidos por el NIH (National Institute of Health, USA) para experimentación en animales y fueron aprobados por el comité ético del INCAN (Instituto Nacional de Cancerología).



Figura 3-1: Raton atímico

Con la finalidad de que las células cancerosas humanas pudieran reproducirse en los animales experimentales fueron utilizados ratones atímicos nu/un (ver Figura 3-1), también conocidos como ratones desnudos puesto que no tienen pelo. Los ratones atímicos carecen de la glándula del timo, esto implica que su sistema inmunológico ha sido suprimido y por lo tanto no rechazarán las células cancerosas externas. Debido a la falta de sistema inmunológico, los ratones atímicos deben ser manipulados bajo estrictas condiciones de esterilidad para evitar el riesgo de infecciones que pudiesen ocasionarles la muerte.

Los ratones fueron almacenados en grupos dentro de cajas especiales diseñadas para este fin. Las cajas se cambiaban para su limpieza y esterilización una vez a la semana. Dentro de las cajas se proveyó aserrín, alimento y agua suficientes y esterilizados previamente en una autoclave<sup>19</sup>.

#### MODELOS TUMORALES

Las células tumorales humanas HeLa<sup>20</sup> usadas en este protocolo se obtuvieron del ATCC (American Type Cell Collection, Rockville, Maryland, USA). Se eligieron para producir el tumor las extremidades inferiores, con la finalidad de reducir la radiación hacia otros órganos importantes.

---

<sup>19</sup> En un autoclave se realiza esterilización por vapor de agua a una atmósfera de presión y a 120°C (estas condiciones pueden variar), el material se deja dentro durante 20 o 30 min.

<sup>20</sup> Las células HeLa (también Hela o hela) son una línea celular usada en la investigación médica. Esta línea celular fue obtenida de células cervicales cancerosas tomadas de Henrietta Lacks, quien murió de cáncer cérvico-uterino en 1951

Bajo una campana de flujo laminar de aire y condiciones antisépticas previas (limpieza con alcohol isopropílico al 70% y utilización de guantes de latex), se inyectaron  $5 \times 10^6$  células de HeLa en ambas extremidades inferiores.

Después de la inoculación, los tumores fueron medidos semanalmente en ambos diámetros utilizando un vernier digital.

### **CÁLCULO DEL VOLUMEN TUMORAL**

El volumen tumoral se determinó utilizando la siguiente relación[17, 18]:

$$V(mm^3) = \pi Dd^2/6 \quad (3.1)$$

donde  $D$  y  $d$  son los diámetros mayor y menor de la masa tumoral, respectivamente.



**Figura 3-2:** Extremidad inferior del ratón donde se observa la masa tumoral desarrollada.

### **VOLUMEN RELATIVO**

Con la finalidad de comparar la evolución del tumor respecto de su volumen al inicio del tratamiento ( $V_o$ ), se calculó el volumen tumoral relativo (VTR) utilizando la siguiente ecuación:

$$VTR = V_i / V_o \quad (3.2)$$

donde  $V_i$  es el volumen tumoral medido semanalmente y  $V_o$  el volumen al inicio del tratamiento.

Cuando los tumores alcanzaron un volumen aproximado de  $200 \text{ mm}^3$  (2 semanas después de la inoculación) se inició el tratamiento.

### **GRUPOS EXPERIMENTALES**

Los ratones para los grupos experimentales se seleccionaron de modo que la distribución del tamaño de los tumores entre grupos fuese similar, es decir, el promedio de la masa tumoral entre los ratones de los diferentes grupos debe ser aproximadamente el mismo.

Se separaron tres grupos:

Grupo A (n= 24 lóbulos tumorales, es decir, 12 ratones): Este grupo recibió un tratamiento de quimio-radiación utilizando Cisplatino como agente quimioterapéutico y gemcitabina como radiosensibilizante, además de radioterapia estándar<sup>21</sup>.

Grupo B (n= 26 lóbulos tumorales): Este grupo recibió un tratamiento de quimio-radiación utilizando únicamente gemcitabina como radiosensibilizante y radioterapia estándar.

Control (n= 12 lóbulos tumorales): únicamente para monitorear el crecimiento de los tumores. Este grupo no recibió tratamiento alguno.

Los grupos experimentales se resumen en la Tabla 3-1:

**Tabla 3-1:** Resumen de los grupos experimentales

	No. Ratones	No. Tumores	Radioterapia	Quimioterapia
<b>GRUPO A</b>	12	24	Sesiones de 2.23 Gy 5 veces a la semana hasta completar 45 Gy	Cisplatino (agente quimioterapéutico) y gemcitabina (radiosensibilizante)
<b>GRUPO B</b>	13	26	Sesiones de 2.23 Gy 5 veces a la semana hasta completar 45 Gy	gemcitabina (radiosensibilizante)
<b>CONTROL</b>	6	12	Ninguna	Ninguna

Para reconocer los tumores se numeró a los ratones en la cola utilizando marcadores indelebles de distintos colores dependiendo del grupo al que pertenecían.

## **RADIOTERAPIA**

Se empleó en la radioterapia una fuente de rayos X de ortovoltaje GULMAY D3225 (Gulmay Medical LTD, UK) con un filtro de 2.25 mm de Aluminio y 0.15 mm de Cobre (Filtro 7), un cono de 2 cm de diámetro que permite una tasa de dosis  $D=2.16 \text{ Gy}/\text{min}$  con una distancia fuente-superficie (SSD<sup>22</sup>) de 20 cm. Bajo tales condiciones el Gulmay trabajó a 150 kV con una corriente de 10.0 mA presentando una energía promedio  $E_{avg} = 60.89 \text{ keV}$ , esto según la Tabla 3-2 proporcionada por el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN).

<sup>21</sup> Las dosis empleadas, se especifican en la siguiente sección.

<sup>22</sup> Por sus siglas en inglés SSD: Source Surface Distance

La radioterapia consistió en una dosis total aproximada de 50 Gy administrada en 20 sesiones (cinco dosis semanales) con una tasa de dosis de  $D=2.16$  Gy/min, que corresponde a una dosis diaria aproximada de  $D = 2.5$  Gy irradiada en un tiempo de 1.17 min sobre la masa tumoral.

**Tabla 3-2:** Gulmay 225 ortovoltaje. El cuadro sombreado corresponde a la tasa de dosis empleada 216 cGy/min.

<b>INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA</b> <b>GULMAY 225 ORTOVOLTAJE</b> <b>RENDIMIENTOS</b> <b>(cGy / min)</b>						
Cono cm	SSD <sup>†</sup> cm	Filtro 2 T= 50 kV 10.0 mA E=23.59 keV	Filtro 3 T= 150 kV 10.0 mA E=72.02 keV	Filtro 5 T= 100 kV 10.0 mA E=39.50 keV	Filtro 7 T= 150 kV 10.0 mA E=60.89 keV	Filtro 9 T= 220 kV 10.0 mA E=123.01 keV
2 <sup>π</sup>	20	168.34	139.56	146.95	216.20	188.80
4	20	180.75	159.93	164.20	238.58	206.81
8	20	171.66	174.35	179.34	265.94	228.92
6x6 <sup>‡</sup>	50	---	27.04	28.06	41.16	34.61
10x10	50	---	29.65	30.29	45.99	38.09
15x15	50	---	31.99	31.56	48.00	40.76

<sup>†</sup> Distancia fuente-superficie

<sup>π</sup> Cono circular

<sup>‡</sup> Cono cuadrado

Para dirigir el haz de rayos X sobre el tumor, se fabricaron unos colimadores circulares de plomo con un espesor de 2 mm, con un diámetro exterior de 2 cm, para que fuese posible ajustarlo al cono utilizado en la radioterapia, y un diámetro interior variable. Para un voltaje pico de 150kV la HVL de plomo es de 0.3 mm [19]. Entonces, considerando que la intensidad inicial del haz es de 2.5 Gy, después de atravesar 2 mm de plomo (igual a 6.66 HVL) la intensidad será de 0.02 Gy, por lo que se considera que no hay transmisión del haz a través de los colimadores.

La elección de estos colimadores para un tumor dado dependió del tamaño del mismo al momento de la irradiación. Los colimadores utilizados se muestran en la Figura 3-3. En la Tabla 4-1 (en los resultados) se muestra la dosis dependiendo del colimador utilizado.



**Figura 3-3:** Colimadores de plomo de 2 mm de espesor, con 2 cm de diámetro exterior y diámetro interior variable utilizados en la radioterapia

Previo a la irradiación, los ratones fueron anestesiados con Lisorane (Isoflurano 100%, Baxter Healthcare Corporation) 1-3 % en oxígeno 100% usando una máquina de inhalación anestésica (Bickford, Wales Center, NY). Se colocó al ratón dentro de una caja de acrílico, fabricada especialmente para este fin, que permitía el suministro variable tanto de isoflurane como de oxígeno mediante un sistema de anestesia de uso veterinario (Vapomatic™, Mod 2 Serial No. 2323, Bickford Inc., Wales Center N.Y. USA) . El manejo de los ratones se hizo siempre utilizando guantes de látex esterilizados con alcohol al 70%.

Una vez anestesiado, el ratón fue colocado sobre una lámina de acrílico (17.2 x 10.3 cm) de 6.6 mm de espesor y ésta sobre un bloque de unicele (25.5 x 29.5 x 7.5 cm) forrado con papel aluminio de 0.04 mm de espesor. El ratón fue sujetado por las extremidades inferiores a la lámina de acrílico mediante cinta micropore para evitar su movimiento en caso de que llegase a despertar a mitad del tratamiento. También se colocó un respirador directo a la boca del ratón para seguir proporcionándole anestésico durante la radioterapia.

## QUIMIOTERAPIA

La quimioterapia consistió en cuatro inyecciones<sup>23</sup> intraperitoneales<sup>24</sup> una semanalmente. Las soluciones contienen 0.9% de solución salina estéril. Las concentraciones de las soluciones para gemcitabina (Eli Lilly and Company, EUA) y cisplatino (Sigma-Aldrich Co., St. Louis MO) utilizadas son  $C_G = 1 \text{ mg/ml}$  y  $C_C = 0.5 \text{ mg/ml}$ , respectivamente.



**Figura 3-4:** Inyección intraperitoneal como parte del tratamiento de quimioterapia.

<sup>23</sup> Siempre realizadas bajo las condiciones de esterilidad antes mencionadas.

<sup>24</sup> Intraperitoneales, i.e. dentro de la cavidad peritoneal, el área que contiene los órganos abdominales.

Se realizó un estudio previo para determinar las dosis de los fármacos que se habrían de utilizar en este experimento. En el estudio piloto se administró inicialmente una dosis de cisplatino de  $D_C = 4 \text{ mg/kg}$ , sin embargo, se observó una pérdida rápida de peso, de aproximadamente 30%, asociada a la toxicidad de este fármaco, por lo que se decidió reducir la dosis al 50%. Al evaluar la respuesta se observó toxicidad tolerable, así como eficacia terapéutica, por lo que se decidió mantener la dosis de cisplatino a  $D_C = 2 \text{ mg/kg}$ . Dado que esta dosis de cisplatino corresponde a  $\frac{1}{20}$  de la dosis utilizadas en humanos<sup>25</sup> se concluyó, para mantener las mismas proporciones entre ambos fármacos, utilizar una dosis de gemcitabina de  $D_G = 6.25 \text{ mg/kg}$ , que también corresponde a una vigésima parte de la dosis para humanos.

Las inyecciones fueron administradas cada lunes antes de la radioterapia y la cantidad de fármaco administrado en *ml* dependió del peso promedio del grupo en cuestión.

#### **DOSIS:**

Gemcitabina  $D_G = 6.25 \text{ mg/kg}$ , Cisplatino de  $D_C = 2 \text{ mg/kg}$

### **EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD**

Con la experiencia previa de que la toxicidad de los fármacos, en especial del cisplatino, se refleja en el peso de los ratones, se tomó el peso como el factor para evaluar la toxicidad.

Por esta razón se midió al inicio de cada semana el peso, en gramos, de los ratones utilizando una balanza digital (CS2000, compact scale, Ohaus Corporation USA).

Del mismo modo que con el volumen, se consideró el peso relativo (PR) para poder compararlo con el peso al inicio del tratamiento según la ecuación:

$$PR = P_i / P_o \quad (3.3)$$

donde  $P_i$  es el peso medido semanalmente y  $P_o$  el peso al inicio del tratamiento.

---

<sup>25</sup> Las dosis utilizadas en el tratamiento de CaCu en humanos son para cisplatino 40 mg/m<sup>2</sup> y 125 mg/m<sup>2</sup> para gemcitabina.

## **ENSAYO CLONOGÉNICO<sup>26</sup>**

Como se mencionó en la introducción, la finalidad de la terapia contra el cáncer es eliminar tanto las células cancerosas como su capacidad de reproducción. Para evaluar ésta capacidad de reproducción de las células cancerosas, se realizó un ensayo clonogénico que se explica a continuación.

Dos semanas después de concluido el tratamiento de quimio-radioterapia, los tumores fueron extirpados y procesados en una suspensión por medio de tripsinización<sup>27</sup>.

La concentración celular<sup>28</sup> fue contada manualmente utilizando un contador celular. Una vez conocido el número de células, se transfirieron a una caja de petri dentro de un medio de cultivo adecuado para su crecimiento. La proporción de células clonogénicas fue determinada contando el número de colonias formadas quince días posteriores a la tripsinización. En otras palabras, se contó el número de células cancerosas después de haberlas dejado reproducirse durante quince días. El número de colonias fue contado para cada una de las muestras correspondientes a cada uno de los tumores tratados. Para simplificar el análisis de los datos se obtuvo el promedio de las colonias encontradas para cada grupo experimental: control, grupo A y grupo B. Si el tratamiento fue efectivo, el número de colonias encontradas para los grupos A y B debe ser considerablemente menor a las encontradas para el grupo control que no recibió tratamiento, justamente como sucedió. Los resultados se muestran en la Tabla 4-2.

## **DOSIMETRIA CON PELÍCULA DE TINTE RADIOCRÓMICO (PTR)**

La importancia de la PTR para este experimento radica en su utilidad para verificar la homogeneidad en las dosis absorbidas por el volumen de interés, en este caso el tumor. Se elaboró la curva de calibración para la PTR con el equipo Gulmay 225 utilizado en la radioterapia, así como la curva de calibración para el irradiador de <sup>60</sup>Co.

---

<sup>26</sup> Ensayo clonogénico es una técnica usada en microbiología par el estudio de la efectividad de agentes específicos sobre la proliferación de células. Es utilizado en la investigación sobre el cáncer para determinar el efecto de fármacos, radiación, o una combinación de ambos. El término "clonogénico" se refiere al hecho de que estas células son clones unas de otras. El principal interés al final del ensayo, es determinar el porcentaje de células que sobrevivieron al tratamiento.

<sup>27</sup> La tripsinización es una forma conveniente de separar las células y levantarlas en una suspensión celular para manejarlas más fácilmente. La tripsina es una enzima peptidasa, que rompe los enlaces de las proteínas mediante hidrólisis para formar péptidos o aminoácidos de menor tamaño.

<sup>28</sup> Se refiere al número de células cancerosas por unidad de superficie.

## MANEJO DE LA PTR

Se cortaron piezas de  $2 \times 2 \text{ cm}^2$  de película radiocrómica dosimétrica Gafchromic® HS, número de lote O0802HS55. La película fue cortada en la penumbra para evitar la incidencia de la luz UV, a la cual es sensible, utilizando pinzas y guantes de látex sin talco para evitar dañarlas y/o ensuciarlas<sup>29</sup>.

## CALIBRACION DE LA PELÍCULA RADIOCRÓMICA CON EL GENERADOR DE RAYOS X GULMAY 225

Con la finalidad de determinar la coloración de la PTR de acuerdo a la dosis depositada en ella, se realizó la curva de calibración de la película utilizando el equipo generador de rayos X Gulmay D3225 usado en la radioterapia<sup>30</sup>, asumiendo que éste equipo ha sido anteriormente calibrado por personal calificado del INCAN.

La curva de calibración se realizó para distintas dosis en intervalos de 0 a 5 Gy. Se irradiaron 5 piezas de película según la Tabla 3-3 y se dejó una pieza de película sin irradiar para referencia de la dosis 0 Gy.

Se utilizó un filtro de Cu-Al (filtro 7) y un cono de 2 cm de diámetro para obtener una tasa de dosis de  $D = 216 \text{ cGy/min}$  según la Tabla 3-2. Se colocaron las piezas de película de  $2 \times 2 \text{ cm}^2$  directamente debajo del cono mencionado sin utilizar los colimadores de plomo y sin colocar lucita sobre la película, únicamente se situaron placas de lucita hasta lograr un espesor de 10 cm por debajo de la PTR.

**Tabla 3-3:** Dosis irradiadas en las Películas de tinte Radiocrómico usando el generador de rayos X Gulmay según los datos de la Tabla 3-2

Dosis (Gy)	Tiempo (min)
0.0 <sup>†</sup>	0.0
0.5	0.23
1.0	0.46
1.5	0.69
3.0	1.39
5.0	2.31

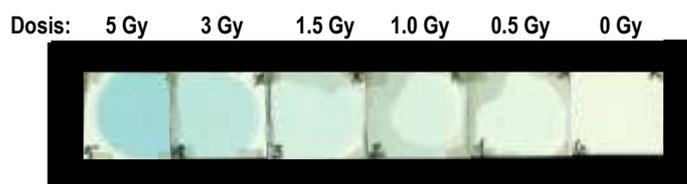
<sup>†</sup> Película sin irradiar

<sup>29</sup> Las PTR siempre fueron manejadas utilizando estas precauciones, por lo que de aquí en adelante no se mencionará esto.

<sup>30</sup> Bajo las especificaciones dadas en la sección de "Radioterapia", mismo filtro, mismo cono, etc.

Después de irradiadas, las películas fueron almacenadas en la oscuridad para su estabilización, pues como se mencionó en la introducción, son necesarios al menos 2 días para que se establezca el cambio de color.

Transcurridas 48 horas las películas fueron montadas en una plantilla de acetato transparente y enmarcadas con cartoncillo negro como fondo (para evitar reflexiones de luz) y utilizando cinta adhesiva transparente. Las películas se colocaron en orden de dosis ascendente (Figura 3-5), incluyendo la película no irradiada y fueron digitalizadas utilizando un escáner (Scan Marker 8700, Microtec) en modo transmisión en escala de colores separándose en sus tres componentes: rojo, verde y azul (RGB- Red, Green, Blue: 24-bits)<sup>31</sup>. La película fue orientada con su frente hacia abajo<sup>32</sup> y en el orden que muestra la Figura 3-5 sobre el escáner y horizontalmente, esto es, paralela a la lámpara fluorescente del escáner, dentro de una región determinada en un estudio previo, dentro de la cual se obtienen las mejores lecturas.



**Figura 3-5:** Película radiocrómica irradiada en el generador de rayos X Gulmay, utilizando un cono de 2 cm de diámetro, a distintas dosis.

Se utilizó el software Image J 1.36b (Wayne Rasband, NIH,USA) [20] para tomar lecturas de las PTR. Se tomaron 5 lecturas (regiones de interés, ROI) de cada película en cada uno de sus colores componentes (rojo, verde y azul). En total 15 ROI de cada pieza de película 5 en la componente roja, 5 en la verde y 5 en la azul. Las lecturas fueron de 35x35 pixeles cada una y después se tomó el promedio de las lecturas obtenidas.

La respuesta de la película fue calculada según la ecuación (2.31) con  $C_{ni}$  el promedio de las lecturas de la película no irradiada y  $C_i$  el promedio de uno de los tres colores componentes. La respuesta (R) fue calculada para cada componente y después se graficó como función de la dosis en Gy (ver Gráfica 4-1 en resultados). Puesto que la componente roja es la que presenta mayor sensibilidad, se eligió esta para ajustar un polinomio de segundo orden que representa la curva de calibración para la PTR.

<sup>31</sup> Este procedimiento se realizó siguiendo el artículo citado en la bibliografía Alva, H. et al. (2002)

<sup>32</sup> El frente lo especifica el fabricante, ver bibliografía num. [15]

Una vez determinada la curva de calibración de la PTR el siguiente paso fue garantizar la irradiación homogénea de la masa tumoral por lo que se verificó que la penetración del haz permitiera un depósito de dosis uniforme dentro del tumor.

La manera más correcta de medir la dosis dentro del tumor sería colocar varios fragmentos de película radiocrómica (PTR<sub>1</sub>, PTR<sub>2</sub>, PTR<sub>3</sub>,...,PTR<sub>i</sub>,...,PTR<sub>N</sub>) a distintas profundidades dentro de la masa tumoral haciendo cortes para introducir la película (ver Figura 3-6), sin embargo, por razones técnicas, esto no fue, ni es posible de realizarse *in vivo*. De modo ideal, cada una de estas PTR<sub>i</sub> debe mostrar la dosis depositada para la profundidad a la que es colocada. Aunque la PTR<sub>i</sub> mostrara una dosis mayor que la de la PTR<sub>i+1</sub>, colocada ésta última un poco más abajo que la primera, la dosis depositada en ambas debe diferir como máximo en un 15% para considerar una irradiación uniforme.

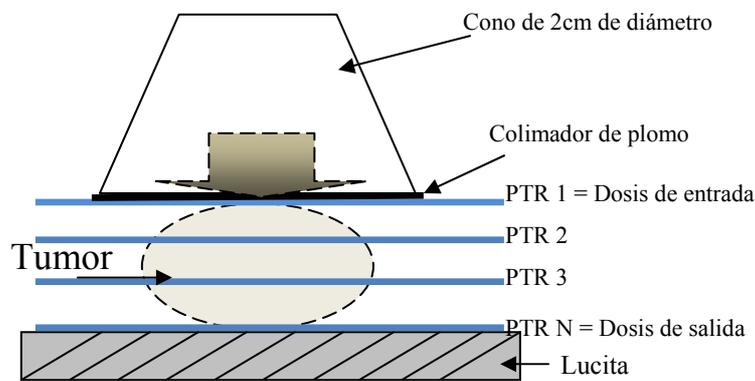


Figura 3-6: Manera ideal de medir la dosis dentro de la masa tumoral utilizando película radiocrómica (PTR i).

En el caso real (Ver Figura 3-7), únicamente se midió la “dosis de entrada”, correspondiente a la PTR1 en la Figura 3-6 y la “Dosis de salida” correspondiente a la PTRN. En la Figura 3-7 se muestra el cono de 2 cm de diámetro en donde son colocados los colimadores de plomo, así como la posición de la película radiocrómica respecto del tumor.

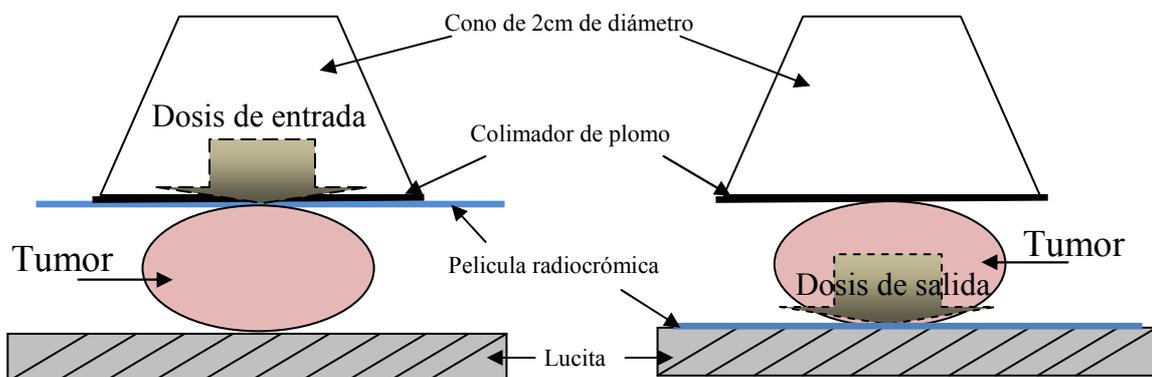


Figura 3-7: Colocación de la película radiocrómica para la dosis de entrada y dosis de salida.

Se irradió por un tiempo de 1.17 min, que corresponde al tiempo que fueron irradiados los tumores en cada sesión de radioterapia según se mencionó anteriormente. El procedimiento se realizó tres veces para cada colimador. Al finalizar se guardaron las películas en la oscuridad para su estabilización y, posteriormente se siguió el mismo procedimiento para su lectura (escaneo de la película, lectura con el software Image J, etc.).

Después se utilizó la ecuación obtenida mediante la curva de calibración para verificar la dosis depositada en la PTR de acuerdo a su respuesta,  $D = D(R)$  (Gráfica 4-1) donde D es la dosis y R la respuesta de la película (ver en Tabla 4-1 resultados).

### **CALIBRACION DE LA PTR CON EL IRRADIADOR DE RAYOS $\gamma$ DE $^{60}\text{Co}$**

La energía de los fotones producidos por  $^{60}\text{Co}$  es en promedio 1.25 MeV (según se menciona en la introducción) mientras que la energía promedio de los rayos X producidos por el generador Gulmay es de 60.89 keV, además se sabe que la película radiocrómica HS es dependiente de la energía de irradiación por lo que se quiso comparar la respuesta de la película cuando se utiliza un irradiador de  $^{60}\text{Co}$ . De modo ideal, si la película radiocrómica fuese independiente de la energía, realizar las curvas de calibración para el generador de rayos X Gulmay 225 y para el irradiador de  $^{60}\text{Co}$ , permitiría tener un modo adicional para verificar las dosis que fueron depositadas sobre la masa tumoral.

Asumiendo nuevamente que el irradiador de  $^{60}\text{Co}$  ha sido calibrado por personal del INCAN, se realizó la curva de calibración variando las dosis a intervalos entre 0 y 5 Gy (las mismas que para el generador Gulmay 225) utilizando un campo de irradiación de  $10 \times 10 \text{ cm}^2$  con la máquina Theratron Phoenix 780 (Theratronics internacional limited, Kanata, Canada) del departamento de radioterapia del INCAN.

La tasa de dosis para la fuente de  $^{60}\text{Co}$  en septiembre del 2006 fue de  $(142.64 \pm 1\%)$  cGy/min para un campo de  $10 \times 10 \text{ cm}$  utilizando la Distancia Fuente-Paciente (DFP, 80cm, según datos proporcionados por el INCAN).

Se irradiaron 5 piezas de película según la Tabla 3-4 y se dejó una pieza de película sin irradiar para referencia de la dosis 0 cGy.

**Tabla 3-4:** Dosis para las Películas de tinte Radiocrómico para el irradiador de rayos  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$

<b>Dosis (Gy)</b>	<b>Tiempo (min)</b>
0.0 <sup>†</sup>	0.00
0.5	0.35
1.0	0.70
1.5	1.05
3.0	2.10
5.0	3.51

<sup>†</sup> Película sin irradiar

Para ser irradiada, la PTR se colocó dentro de un arreglo especial de lucita con el fin de asegurar el equilibrio de partícula cargada (EPC). El arreglo consistió en una lámina de 0.5 cm de lucita sobre la película y 10 cm de espesor de láminas de lucita por debajo de ésta. Las películas fueron colocadas dentro de este arreglo. Se realizaron los procedimientos de alineación del cabezal y centrado del arreglo dentro del campo, con una distancia fuente-superficie de 80 cm.

Después de irradiadas, las películas fueron almacenadas en la oscuridad para su estabilización, pasado el tiempo correspondiente las películas fueron escaneadas, se leyeron y analizaron como se mencionó anteriormente.

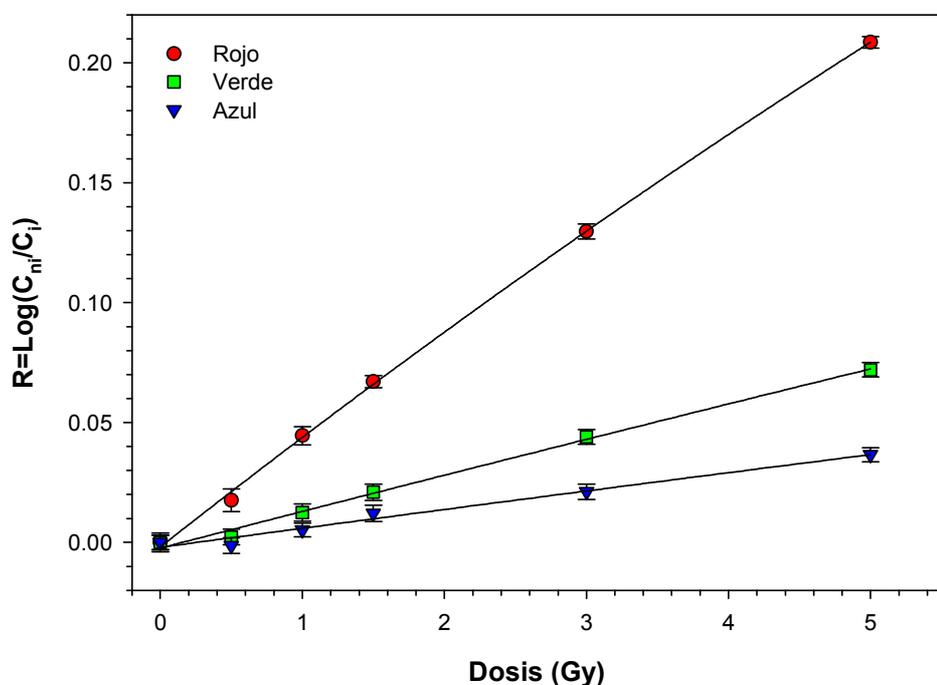
Para realizar la curva de calibración se utilizó nuevamente la componente roja por ser la más sensible y se ajustó la recta sobre los datos obtenidos (ver Gráfica 4-2 en resultados).

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico de los datos empleados en las gráficas de peso, volumen y curvas de calibración fue realizado usando análisis de varianza (ANOVA) de una vía usando el software SPSS Base 12.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). Diferencias en el volumen y peso relativo fueron comparadas estadísticamente entre grupos. Cuando fue necesario las comparaciones entre las medias fueron ajustadas utilizando la aproximación de Bonferroni. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como una probabilidad aceptable para una diferencia significativa entre medias. Los valores son reportados como promedio  $\pm$  el cociente de la desviación estándar por la raíz del número de mediciones (sem) .

## 4 RESULTADOS

En la Gráfica 4-1 se muestra la curva de calibración de la película radiocrómica Gafchromic HS irradiada con rayos X de 60.89 keV de energía efectiva en el generador de rayos X Gulmay. Se utilizó un filtro de Cu-Al y un cono de 2cm de diámetro para obtener un rendimiento de 2.16 Gy/min. Se muestran los resultados del análisis en las componentes del formato RGB. La ecuación debajo del gráfico es el ajuste para la componente roja de la curva de calibración, R es la respuesta de la película radiocrómica y D es la dosis depositada en ella.



Respuesta de la componente Roja:

$$R(\text{Gulmay}) = (-0.0019 \pm 0.0020) + (0.0466 \pm 0.0022) \cdot D + (-0.0009 \pm 0.0004) \cdot D^2$$

$$r^2 = 0.9997$$

**Gráfica 4-1:** Curva de calibración de la película radiocrómica Gafchromic HS irradiada con rayos X en el generador de rayos X Gulmay.

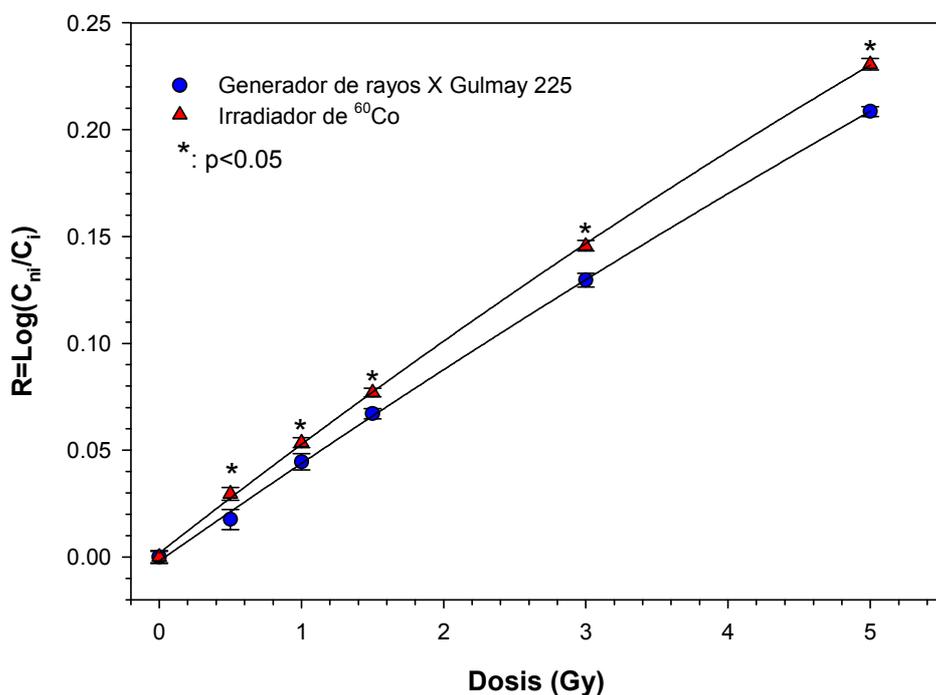
La Tabla 4-1 muestra las dosis de entrada y de salida medidas con la PTR para cada uno de los colimadores de plomo empleados durante las irradiaciones (ver Figura 3-3). La “dosis de entrada”, se refiere a la dosis que incide directamente sobre la superficie de la masa tumoral. Mientras que la “dosis de salida” (ver Esquema 4-1) se refiere a la dosis medida por debajo del tumor. Para calcular la dosis de salida se colocó un fragmento de PTR inmediatamente

debajo de la masa tumoral a irradiar (pata del ratón) durante una sesión normal de radioterapia. Los valores de dosis mostrados en la Tabla 4-1 se calcularon a partir de la curva de calibración (Gráfica 4-1).

COLIMADOR	Dosis de entrada (Gy)	Dosis de Salida (Gy)	Diferencia entre dosis de entrada y salida
C2	2.50 ± 0.14	2.07 ± 0.14	17 %
C3	2.45 ± 0.15	1.98 ± 0.15	19 %
C4	2.42 ± 0.17	2.01 ± 0.17	17 %

**Tabla 4-1:** En la primera columna se indican los colimadores de plomo utilizados en las irradiaciones, en las siguientes dos columnas se muestran las “dosis de entrada” y “dosis de salida”, respectivamente y en la última columna se muestra la diferencia porcentual entre las dosis de entrada y de salida.

La Gráfica 4-2 muestra las componentes rojas de las curvas de calibración de la película radiocrómica Gafchromic HS irradiada en el generador Gulmay 225 (círculos) y en el irradiador de <sup>60</sup>Co (triángulos). Las ecuaciones de las curvas se muestran debajo del gráfico. Obsérvese que los datos muestran ser estadísticamente diferentes (\*:p<0.05).



$$R(\text{Cobalto}) = (0.0018 \pm 0.0014) + (0.0522 \pm 0.0016) \cdot D + (-0.0013 \pm 0.0003) \cdot D^2$$

$$r^2 = 0.9999$$

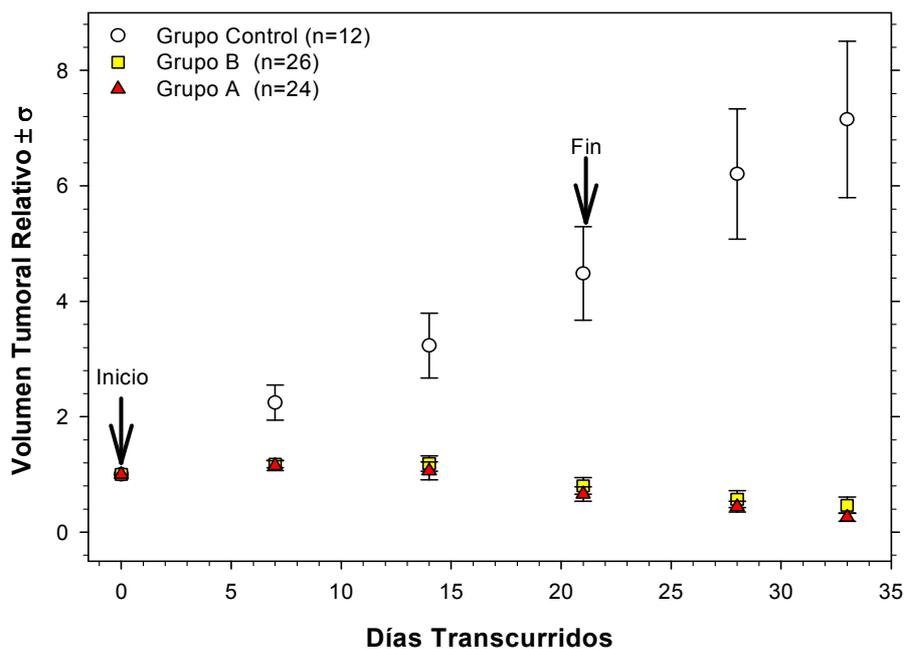
$$R(\text{Gulmay}) = (-0.0019 \pm 0.0020) + (0.0466 \pm 0.0022) \cdot D + (-0.0009 \pm 0.0004) \cdot D^2$$

$$r^2 = 0.9997$$

**Gráfica 4-2:** Componentes rojas de las curvas de calibración de la PTR irradiada en el generador Gulmay 225 y en el irradiador de <sup>60</sup>Co.

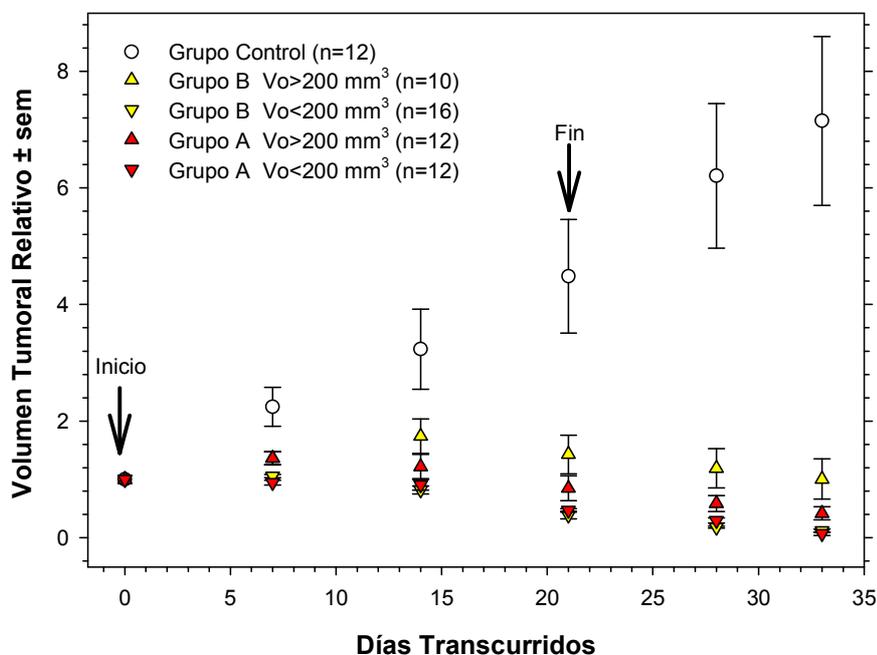
En las gráficas 4-3 a 4-7 la “n” representa el número de tumores medidos y las flechas señalan el inicio y fin del tratamiento de quimio-radioterapia.

La gráfica 4-3 muestra el cambio relativo en el volumen tumoral según los grupos experimentales: Grupo A (radioterapia + cisplatino + gemcitabina), Grupo B (radioterapia + gemcitabina) y grupo control (sin tratamiento). El análisis de varianza no mostró diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos A y B, aunque sí del grupo control. Se observa de modo notable el efecto del tratamiento combinado de quimio-radioterapia en los grupos A y B con respecto al grupo control.



Gráfica 4-3: Volumen tumoral relativo según los grupos experimentales.

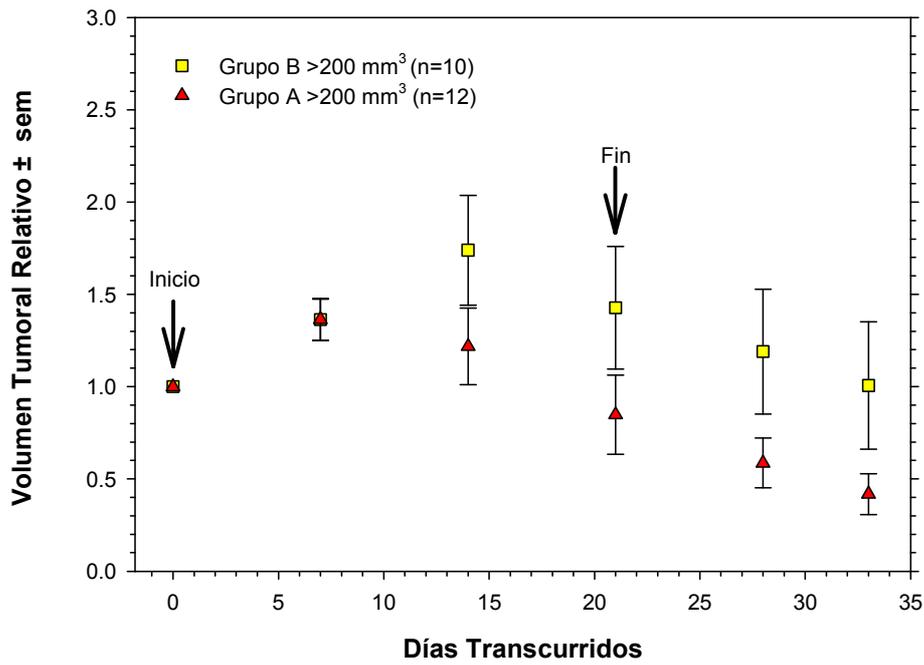
La gráfica 4-4 muestra el análisis del cambio en el volumen tumoral relativo para los distintos grupos experimentales (A, B y control) según si el volumen tumoral al inicio del tratamiento ( $V_0$ ) fue mayor o menor que  $200 \text{ mm}^3$ . El análisis estadístico realizado no mostró diferencias entre los grupos A y B independientemente del volumen inicial  $V_0$ .



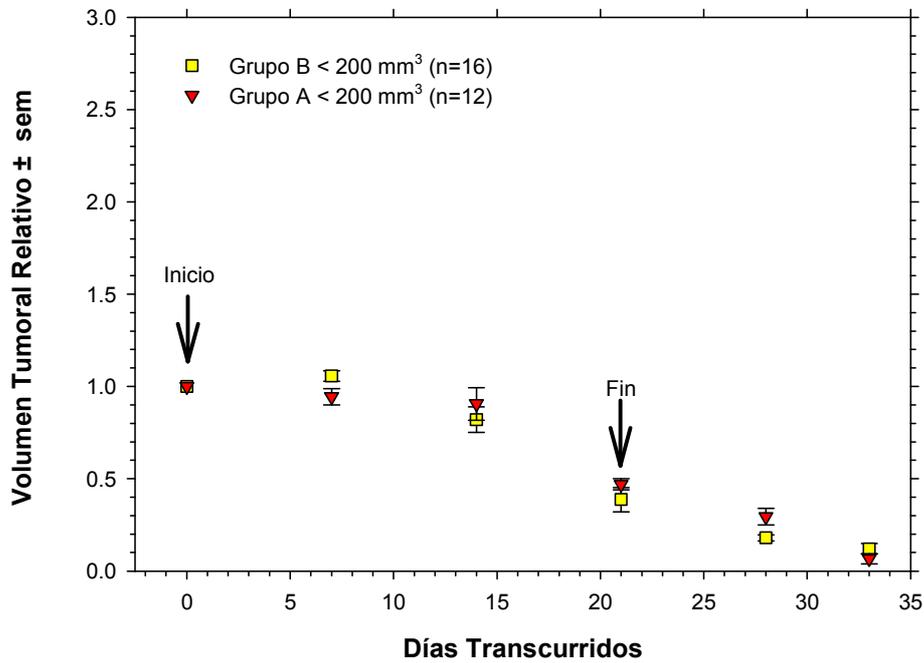
**Gráfica 4-4:** Análisis del volumen tumoral relativo de acuerdo a un volumen inicial ( $V_0$ ) mayor o menor que  $200 \text{ mm}^3$ .

En la gráfica 4-5 se muestra el análisis del cambio en el volumen tumoral relativo para los grupos experimentales A y B en el caso de los tumores que tuvieron un volumen inicial  $V_0 > 200 \text{ mm}^3$ . Obsérvese que, incluso después de concluir el tratamiento el volumen tumoral seguía decreciendo. El análisis estadístico realizado no mostró diferencias entre ambos grupos experimentales.

La gráfica 4-6 muestra el análisis del cambio en el volumen tumoral relativo para los grupos experimentales A y B en el caso de los tumores con un volumen inicial  $V_0 < 200 \text{ mm}^3$ . Obsérvese que en la última medición el tumor casi ha desaparecido. El análisis estadístico realizado no mostró diferencias entre ambos grupos experimentales.

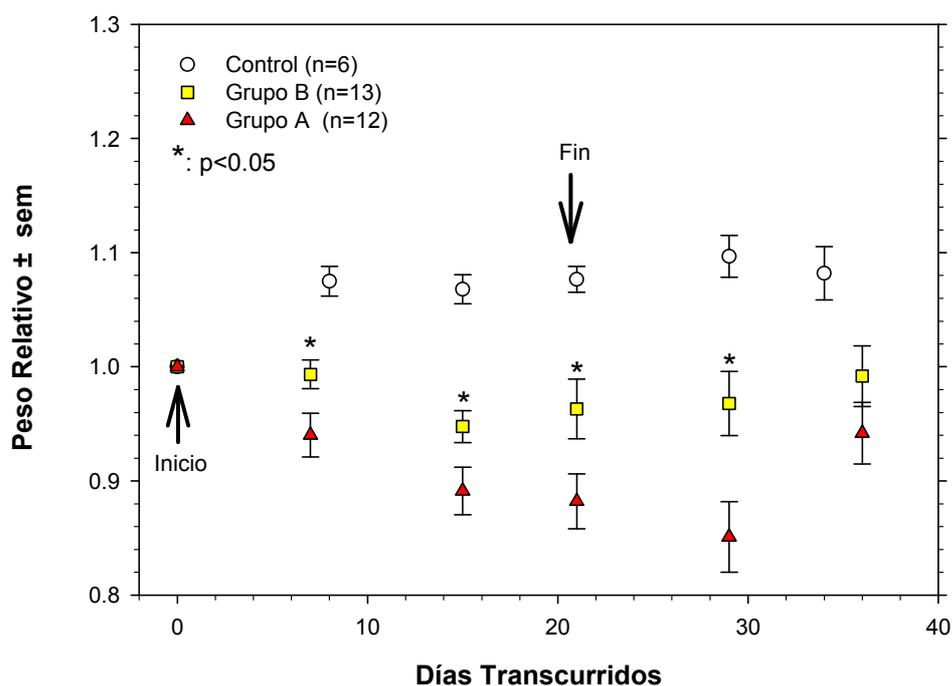


**Gráfica 4-5:** Cambio en el volumen tumoral relativo para tumores con un volumen inicial  $V_0 > 200 \text{ mm}^3$  en los grupos experimentales A y B.



**Gráfica 4-6:** Cambio en el volumen tumoral relativo para tumores con un volumen inicial  $V_0$  menor que  $200 \text{ mm}^3$  en los grupos experimentales A y B.

En la gráfica 4-7 se representa el peso relativo de los ratones según los distintos grupos experimentales (A, B y Control). Con el peso se pretende evaluar la toxicidad del tratamiento, obsérvese la disminución de peso en el grupo A (triángulos) que recibió un tratamiento de radioterapia+ cisplatino+ gemcitabina, mientras que la disminución de peso en el grupo B (cuadrados) no es tan dramática y el peso de este grupo comienza a recuperarse incluso antes de concluir el tratamiento. El peso del grupo A tarda un poco más en recuperarse mientras que el peso del grupo control se mantiene relativamente constante.



**Gráfica 4-7:** Peso relativo de los ratones para los distintos grupos experimentales (A, B y Control) como función del tiempo transcurrido.

Finalmente, en la Tabla 4-2 se muestran los resultados del estudio de viabilidad celular realizado al término del tratamiento. Se observa que en ambos grupos experimentales (A y B) no hubo capacidad de reproducción de colonias.

Grupo experimental	Número de colonias
Control	207 ± 5
Grupo A	1 ± 1
Grupo B	0 ± 1

**Tabla 4-2:** Número de colonias encontradas como resultado del estudio de viabilidad celular para los grupos experimentales.

## 5 ANÁLISIS DE RESULTADOS

### DOSIMETRÍA

En la Gráfica 4-1 se muestran las componentes RGB (roja, verde y azul) de la curva de calibración para la película radiocrómica Gafchromic HS® irradiada con rayos X de 60.89 keV de energía efectiva en el generador Gulmay 225; es claro que la componente roja es la más sensible [16], por lo que a partir de esta componente se cuantificaron las dosis depositadas en las películas utilizadas, como se indicó anteriormente se partió del hecho de que el generador Gulmay fue calibrado anteriormente por personal calificado del INCAN.

La Tabla 4-1 muestra los resultados de la medición de dosis depositada, para los distintos colimadores empleados en las irradiaciones, sobre la superficie del tumor “dosis de entrada” y en la parte inferior del tumor “dosis de salida” según lo muestra la Figura 3-7. Se observa que no existe diferencia entre las dosis de entrada para los distintos colimadores puesto que se encuentran unas dentro del margen de incertidumbre de las otras. Lo mismo sucede con las dosis de salida. Así pues, la dosis promedio de entrada es de  $(2.45 \pm 0.15)$  Gy, mientras que la dosis promedio de salida es de  $(2.02 \pm 0.15)$  Gy.

En la tercera columna de la Tabla 4-1 se muestra la diferencia entre las dosis de entrada y salida. Al respecto, es importante notar que, al medir la dosis de salida, la película dosimétrica se colocó exactamente debajo de la pata del ratón en la que se implantó el tumor (Figura 3-7). Lo que se quiere decir con esto es que, la radiación no sólo atravesó el tumor sino también parte del hueso de la extremidad del ratón y el tejido sano por debajo de éste hasta depositar la dosis en la PTR. Suponiendo que el espesor de la pata del ratón sea de aproximadamente 1.5 cm el 66.66% (1 cm) corresponde al tumor mientras que el 13.33% (0.2 cm) corresponde a hueso<sup>33</sup> y el 20% (0.3 cm) al músculo por debajo del tumor se puede intuir que, la dosis después de atravesar únicamente el tumor es un poco mayor a la medida con la PTR. Nuevamente, esto no fue posible de medirse *in vivo*, habría sido necesario realizar cortes en la pata del ratón.

Todo esto con el objetivo de explicar que sí se tomase en cuenta la diferencia entre las dosis de entrada y salida, únicamente para el tumor (excluyendo hueso y músculo debajo de éste)

---

<sup>33</sup> El hueso tiene un  $Z_{\text{prom}} = 13.8$  y una densidad de  $1.3 \text{ g/cm}^3$ , así como un coeficiente másico de atenuación de  $\mu / \rho = 0.273 \text{ cm}^2/\text{g}$ , cantidades que son mayores que para el músculo ( $Z_{\text{prom}} = 7.64$ ,  $\mu / \rho = 0.204 \text{ cm}^2/\text{g}$ ,  $1.04 \text{ g/cm}^3$ ) lo que implica que el haz de fotones sufre una atenuación mayor al atravesar hueso que al atravesar músculo.

la diferencia entre dosis (tercer columna en la Tabla 4-1) podría tener un valor más cercano al 15% como para considerar una irradiación uniforme, que era lo que se buscaba verificar mediante el empleo de la PTR.

Después de concluir el tratamiento completo de radioterapia se obtuvo que la dosis total administrada sobre los tumores fue de  $(45.10 \pm 0.64)$  Gy. Si bien la dosis total administrada fue menor que los 50 Gy que se pretendían, debido al empleo de los colimadores de plomo, los resultados se muestran favorables en cuanto a la respuesta del tumor al tratamiento.

Respecto a este punto se resalta la importancia de tomar en cuenta los posibles cambios en la dosimetría que pudiesen surgir como resultado del empleo de cualquier dispositivo o herramienta adicional a los que se utilizan de modo normal con el generador Gulmay 225 en una sesión de radioterapia. Aunque se conocen las dosis para cada uno de los conos y filtros de los que dispone el generador, es necesario tomar en cuenta las posibles variaciones en el rendimiento. Se resalta la importancia de este trabajo como elemento para valorar la metodología empleada dentro del protocolo de quimio-radiación que se pretende establecer.

La Gráfica 4-2, muestra las componentes rojas de las curvas de calibración para el generador Gulmay 225 y para el irradiador de  $^{60}\text{Co}$ . Aunque las dosis depositadas en la película fueron las mismas, el análisis estadístico mostró que las curvas son efectivamente distintas ( $p < 0.05$ ) debido a la dependencia de la energía de irradiación que presenta la película radiocrómica HS. Se considera de bastante utilidad para el protocolo, en cuanto a dosimetría se refiere, el empleo de una película radiocrómica que sea independiente de la energía (como la EBT también fabricada por Specialty- Products [14]), esto permitiría tener una mayor exactitud en las dosis administradas puesto que sería posible comparar la respuesta de la película para dosis iguales pero con equipos distintos (en este caso el irradiador de  $^{60}\text{Co}$  se puede tomar como un irradiador de referencia). Esto es únicamente como un elemento adicional de verificación.

## **COMPARACIÓN EN LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS**

Las dosis depositadas mediante la radioterapia junto con el tratamiento de quimioterapia lograron controlar el crecimiento del tumor como lo muestran las gráficas 4-3 a 4-6 del volumen tumoral relativo.

Gráfica 4-3 se puede observar en primera instancia que el volumen tumoral del grupo control presenta crecimiento considerable desde el día cero (cuando se inicia el tratamiento de quimio-radioterapia para los grupos A (radioterapia + cisplatino + gemcitabina) y B (radioterapia + gemcitabina) hasta el último día de la toma de datos, cuando los ratones fueron sacrificados dos semanas después de concluido el tratamiento. Es notable que el volumen tumoral para los grupos A y B que recibieron tratamientos de quimioterapia distintos, se observe muy similar. Por esta razón, se realizó el análisis de varianza correspondiente, encontrándose que la respuesta terapéutica a ambos tratamientos no fue estadísticamente diferente ( $p < 0.05$ ).

Con la finalidad de realizar un examen más detallado se analizó el cambio en el volumen relativo para los grupos A y B de acuerdo a si el volumen inicial ( $V_0$ ) fue mayor o menor que  $200 \text{ mm}^3$ .

Gráfica 4-4 muestra el crecimiento relativo del volumen tumoral de los grupos A y B, con  $V_0 > 200 \text{ mm}^3$  y  $V_0 < 200 \text{ mm}^3$ , con respecto al grupo control (en el grupo control no se tomó en cuenta el volumen inicial). Para observar como se comporta el volumen relativo más detalladamente se presenta la Gráfica 4-5 en donde se muestra el volumen tumoral relativo para un volumen inicial  $V_0 > 200 \text{ mm}^3$  para los grupos experimentales A y B. El análisis de varianza muestra que no existe diferencia estadística en la respuesta en ambos tratamientos, por lo que pueden considerarse igualmente efectivos en este sentido.

La Gráfica 4-6 presenta el volumen tumoral relativo para tumores con un volumen inicial  $V_0 < 200 \text{ mm}^3$ , nuevamente el análisis estadístico no mostró diferencia entre ambos grupos. Es notorio que para volúmenes iniciales  $V_0 < 200 \text{ mm}^3$  e independientemente del tratamiento, el tumor prácticamente había desaparecido para cuando se hizo la toma de los últimos datos. En este sentido, ambos tratamientos no resultan estadísticamente diferentes en su efectividad como lo demostró el análisis correspondiente realizado. Sin embargo, se intuye que la respuesta del control tumoral no sólo está en función del tratamiento que se administró sino también del volumen tumoral a ser tratado.

Dado que la respuesta al tratamiento, considerando únicamente el volumen tumoral, no mostró ser estadísticamente distinta (Gráfica 4-5 y Gráfica 4-6), se debe observar con detalle la toxicidad asociada a los tratamientos (Gráfica 4-7). La Gráfica 4-7 muestra el peso relativo de los ratones experimentales según el grupo al que pertenecen (A, B y Control). Se observa que el peso de los ratones agrupados dentro del Grupo A disminuye notablemente desde el inicio hasta el fin del tratamiento. Una vez finalizado el tratamiento fue necesaria una

semana más para recuperar el peso en el grupo A perdido como consecuencia de la toxicidad asociada al cisplatino. Sin embargo, el peso del grupo B disminuye poco durante los primeros días y comienza a recuperarse aún antes de finalizar el tratamiento. El último día de la toma de datos (dos semanas después de finalizado el tratamiento) el peso del grupo B es prácticamente el mismo que al inicio del tratamiento. En la Gráfica 4-7 el análisis estadístico sí mostró diferencias en el peso de ambos grupos, como se observa claramente en el gráfico. Aunque el control de la masa tumoral fue estadísticamente el mismo para los grupos experimentales A y B, la toxicidad asociada al tratamiento con Cisplatino fue considerable.

Como elemento adicional para verificar la efectividad de los tratamientos se realizó el análisis de la capacidad de reproducción de las células cancerosas (ensayo clonogénico) una vez que hubo concluido el tratamiento. La

Tabla 4-2 confirma la efectividad de ambos tratamientos en cuanto al control tumoral. Se muestra en esta tabla que el número de colonias encontradas quince días posteriores a la extracción del tumor para los grupos que recibieron tratamiento (grupos A y B) es muy bajo, prácticamente despreciable para las muestras cuantificadas. Esto indica que se logró eliminar la capacidad de reproducción de las células cancerosas, es decir, ambos tratamientos de quimio-radioterapia resultaron *igualmente* exitosos, puesto que, debido a la incertidumbre asociada a los datos, el número de colonias encontrado para los grupos A y B es el prácticamente el mismo. Es bastante clara la diferencia en la generación de colonias entre el grupo control y los grupos bajo tratamiento, de este modo no queda duda respecto de la efectividad de ambos tratamientos.

En general, estas observaciones sugieren que el uso simultáneo de radioterapia con gemcitabina (a dosis de radiosensibilizante) tiene un potencial terapéutico equivalente al de la radioterapia junto con cisplatino y gemcitabina que se ve reflejado en el control de la masa tumoral. Sin embargo, el tratamiento que sólo recibió gemcitabina posee la ventaja adicional de una toxicidad menor que se observa en el peso de los ratones experimentales.

## 6 CONCLUSIONES

Del trabajo realizado podemos concluir que el protocolo utilizado para desarrollar el modelo tumoral de CaCu en ratones fue adecuado, es decir, después de implantado el tumor, éste consiguió crecer hasta alcanzar un tamaño conveniente para iniciar el tratamiento de quimio-radioterapia. El hecho de haber elegido las extremidades inferiores para su implantación permite descartar que la disminución en el peso de los ratones experimentales haya sido debida a la radiación misma y no al efecto de los fármacos como se ha señalado.

En cuanto a las sesiones de radioterapia, se destaca la anestesia de los ratones como un procedimiento necesario ya que, sin ésta hubiese sido muy complicado llevar a cabo la irradiación.

Los colimadores de plomo empleados permitieron dirigir de manera óptima el haz de radiación enfocándolo únicamente sobre la masa tumoral, se consideran de gran ayuda, en especial cuando el volumen del tumor es pequeño. Sin embargo, es necesario realizar un análisis dosimétrico previo al inicio de la radioterapia si es que se pretende utilizar elementos o dispositivos adicionales a los que se utilizan normalmente en la irradiación, esto con la finalidad de verificar el rendimiento del generador de rayos X empleado.

Como se mencionó anteriormente, se sugiere el empleo de una película radiocrómica dosimétrica independiente de la energía como elemento adicional para verificar las dosis administradas al compararlas con las obtenidas en un irradiador de referencia. No obstante, la película empleada cumplió con su objetivo principal como dosímetro, permitiendo analizar las dosis proporcionadas para las distintas circunstancias (dosis de entrada y de salida para los distintos colimadores). Es importante mencionar que la película radiocrómica debe ser colocada para su lectura sobre el escáner como se menciona en la metodología y según el artículo de Alva, H. et al. (2002) [16] ya que de ser leída de otro modo los resultados difieren notablemente.

Según muestran las gráficas de volumen tumoral y peso las dosis de fármacos administradas son tóxicamente aceptables y efectivas. El procedimiento utilizado para inyectar los fármacos no mostró dificultad alguna. El ensayo clonogénico demostró ser un medio adicional de muy valiosa utilidad para comprobar que la eliminación de la capacidad de reproducción de las células cancerosas, aunque las gráficas de volumen tumoral son en sí suficientes.

En cuanto a la comparación de los tratamientos, el estudio mostró que el uso concomitante de radioterapia con gemcitabina, a dosis de radiosensibilizante, tiene un potencial terapéutico aparentemente equivalente al del cisplatino pero con una toxicidad menor. Estudios posteriores, en otras líneas celulares, deben ser realizados para validar la efectividad de ambos tratamientos con el fin de mejorar el protocolo clínico utilizado en pacientes en los que los efectos tóxicos asociados al cisplatino limiten su uso terapéutico. El protocolo de quimio-radiación establecido en este trabajo permitirá realizar investigaciones en un futuro próximo con modelos tumorales en ratones atímicos (investigaciones pre-clínicas). Su importancia radica en que, al establecer un protocolo, se sientan las bases para evaluar los resultados de los tratamientos de quimio-radioterapia en sí mismos.

## 7 BIBLIOGRAFIA

1. Cetina, L., et al., *Radiosensibilizantes en Cáncer Cervicouterino*. Cancerología, 2006. **1**: p. 4-29.
2. Van Dyck, J., *The Modern Technology of Radiation Oncology*. 1999, Medical Physics Publishing.
3. Williams, J.R. and D.I. Thwaites, *Radiotherapy Physics in Practice*. 1993, New York: Oxford University Press.
4. Rodríguez-Ponce. M, *Dosimetría para un tratamiento de cáncer cervicouterino que combina braquiterapia de baja tasa de dosis y teleterapia con rayos x*. Tesis. Posgrado en Ciencias Físicas. 2003, UNAM: México D.F.
5. Calvagna, M. *Quimioterapia para el Tratamiento del Cáncer*. 2003 [cited <http://healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?token=0d429707-b7e1-4147-9947-abca6797a602&chunkid=126030>].
6. Gerson, R., et al., *Gemcitabina en cáncer avanzado. Estudio fase 1*. Cancerología, 1998. **44**(2): p. 72-76.
7. Bailey, B.J., *Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. 3 ed. 2001, Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins.
8. Khan, F.M., *The Physics of Radiation Therapy*, L.W.A. Wilkins, Editor. 1984: Baltimore.
9. Attix, F.H., *Introducción to Radiological Physics and Radiation Dosimetry*. 1986, New York: Wiley.
10. Greening, J.R., *Fundamentals of Radiation Dosimetry*. 1981, Bristol: Adam Hilger Ltd.
11. Dendy, P.D. and B. Heaton, *Physics for Diagnostic Radiology*. 2 ed. Medical Science Series. 1999, New York: Taylor & Francis.
12. Niroomand-Rad, A., C. Blackwell, and B. Coursey, *Radiochromic film dosimetry: Recomendations of AAPM Radiation Therapy Committee Task Group 55*. Med. Phys. November 1998. **25**(11): p. 2093-2115.
13. International-Specialty-Products. *Gafchromic(R) HS Radiochromic Dosimetry Films for High Energy Photons Configuration, Specifications and Performance Data*. june 2007 [cited <http://harpellassociates.com/ISP/gaf-hs-conspefo.pdf>].
14. Specialty-Products, I. *Gafchromic(R) HS Radiochromic Dosimetry Films for High Energy Photons Configuration, Specifications and Performance Data*. june 2007 [cited <http://harpellassociates.com/ISP/gaf-hs-conspefo.pdf>].
15. Butson, M.J., et al., *Radiochromic film for medical radiation dosimetry*. Materials Science and Engineering, 2003. **41**: p. 61-120.
16. Alva, H., et al., *The use of a reflective scanner to study radiochromic film response*. Phys. Med. Biol., 2002. **47**: p. 2925-2933
17. Kjonniksen, I., et al., *A human tumor lung metastasis model in atimic nude rats*, *Cancer Research*. 1989. p. 5148-5152.
18. Olea, N., et al., *Breast Cancer Cu growth as multicellular Spheroids in vitro*, in *Int. J. Cancer*. 1992. p. 112-117.
19. *Structural shielding design and evaluation for medical use of X rays and gamma rays of energies up to 10 MeV*. 1976: National Council on Radiation Protection and Measurements.

20. Rasband, W. *Image Processing and analysis in Java*. [cited Sep 2006]; Available from: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.