



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS

EFFECTO DE LA TASA DE DOSIS EN LA MEMORIA ESPACIAL TRAS LA
IRRADIACIÓN HOLOCRAREAL EN UN MODELO DE RATA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA MÉDICA)

PRESENTA:
RAMIRO HUMBERTO AGUIRRE MALDONADO

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Paola Ballesteros Zebadúa
Instituto De Neurología Y Neurocirugía *Manuel Velasco Suárez*

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Mercedes Rodríguez-Villafuerte
Instituto de Física – UNAM
M. en C. Alejandro Rodríguez-Laguna
Hospital Médica Sur

Ciudad de México a 31 de mayo de 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A mis abuelos

Se han ido, dejando detrás un sinfín de enseñanzas, anécdotas y buenos momentos.

Siempre serán mi ejemplo de fortaleza, humildad y más que nada de amor por la familia.

Se han ido, pero dejan detrás una familia que por siempre los amaré y recordará.

Descansen en paz.

A handwritten signature in black ink on a light-colored rectangular background. The signature reads "Julián & Alicia" in a cursive, flowing script. The ampersand is stylized and connects the two names.

[Página intencionalmente dejada en blanco]

<<Él comenzaba su curso en 1902 ofreciendo a sus estudiantes *“Todo lo que tengo: Mi ser, mi forma completa de pensar y sentir”* y pedía lo mismo de ellos: *“Atención estricta, disciplina de hierro, fuerza mental inalcanzable. Pero perdón si primero pido por lo que más significado tiene para mí: Su confianza, su afecto, su amor, en una palabra, para lo máximo que tienes el poder de dar: Tú mismo”*>>

Extracto del libro *Lise Meitner: A Life in Physics* por Ruth Lewin Sime (1996).
Univ of California Press. Traducción personal.

[Página intencionalmente dejada en blanco]

Agradecimientos

A mi mamá, que todo en la vida será gracias a que ella desde el inicio cree en mis planes aun cuando signifique la distancia. A mi familia por que fueron el apoyo hacia ella en los días más difíciles y siempre estuvieron atentos a mi progreso. A mis amigos que incluso a distancia fueron los mejores que he tenido, principalmente a Yoly que nunca dejó que olvidara a *La Jenny*.

A *Samus* por siempre, que la ciudad sea un recuerdo de los mejores momentos que pasamos y el apoyo que me diste para no perder la motivación. A mis compañeros que recibieron y ayudaron al foráneo en poder adaptarse a un cambio tan fuerte y un camino tan complicado como fueron los cursos y la Residencia.

A la Dra. Paola Ballesteros, que además de aceptar compartir sus conocimientos, lo hizo siempre con una sonrisa en el rostro y la mejor de las actitudes, eso es un gran apoyo en no dudar del camino de la Ciencia. Su soporte en la situación tan complicada que se vivió este año 2020 es invaluable. A los miembros de mi comité tutor: la Dra. Mercedes Rodríguez y el M. en C. Alejandro Rodríguez Laguna que además de sus enseñanzas en clases y residencia, su carácter y disposición fueron esenciales para el éxito de este proyecto.

Al Instituto de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” por las facilidades en el ingreso y uso de sus instalaciones. Al Dr. Javier Franco Pérez por la orientación, apoyo y enseñanza en el manejo de animales y extracción de tejido. A los maestros Francisco Laez y Alfredo Herrera por su ayuda tan valiosa en el departamento de Radioneurocirugía, así como todos los miembros del departamento de Física Médica del INNNMVS.

A la Universidad Nacional Autónoma de México a través del Posgrado en Ciencias Físicas por permitir que forme parte de los Pumas. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo de beca a lo largo del Programa de Maestría.

“Por mi raza hablará el espíritu”

Contenido

Capítulo I. Introducción	2
I.1. Justificación.	3
Capítulo II. Antecedentes.....	5
II.1. Física de la Radioterapia	5
II.1.1. El Acelerador Lineal.....	5
II.1.2 Radioterapia sin Filtro de Aplanado.....	8
II.1.3 Planeación en Radioterapia	12
II.1.4. Evaluación de Plan de Tratamiento.....	16
II.2. Efectos Biológicos de la Radioterapia.....	17
II.2.1. Modelos de respuesta Radiobiológica.....	22
II.3. La Radioterapia en el Sistema Nervioso Central.....	28
II.3.2. Efectos neuro-cognitivos inducidos por radiación	35
II.3.3. Neuroinflamación por radiación.....	39
II.4. Efecto de la tasa de dosis en la Radioterapia.....	39
II.4.2. Efectos Radiobiológicos de RT-FFF	44
Objetivos del proyecto	50
Objetivo general	50
Objetivos específicos	50
Capítulo III. Materiales y Metodología Experimental	51
III.1. Proceso pre-irradiación	51
III.1.1. Animales	51
III.2. Proceso de Irradiación.....	52
III.2.1. Equipo generador de radiación.....	52
III.2.2. Diseño de plan de tratamiento.....	53
III.3. Proceso post irradiación: Evaluación de conducta.....	58
III.4. Análisis estadístico.....	62
III.4.1. Prueba de normalidad.....	62
III.4.2. Comparación de medias	62
Capítulo IV. Resultados.	64
Capítulo V. Discusiones.....	70
Capítulo VI. Conclusiones	81
Capítulo VII. Referencias.....	82

Capítulo I. Introducción

El término cáncer se refiere a la condición patológica del cuerpo donde existe un crecimiento y reproducción celular sin control (Yuzhalin & Kutikhin, 2014). Agrupa a más de 200 tipos distintos y tienen características como la de infiltrarse en otros tejidos y generar metástasis además de una probabilidad de recurrencia (Bray et al., 2018; Yuzhalin & Kutikhin, 2014). Hoy en día el cáncer es uno de los problemas de salud pública más graves y ahí la importancia de prescribir un tratamiento adecuado y eficaz. El objetivo principal de un tratamiento es curar el cáncer o prolongar en lo posible la vida del paciente de la mano con mejorar la calidad de vida (WHO, 2018).

La radioterapia es una modalidad clínica de tratamiento que consiste en el uso de radiación ionizante en pacientes con este tipo de neoplasias malignas y ocasionalmente enfermedades benignas, entre otras (Halperin et al., 2018). Es un tratamiento efectivo en el manejo del cáncer y la principal alternativa a la cirugía ya que puede mejorar significativamente el control loco-regional, la supervivencia global y la calidad de vida en múltiples patologías tumorales agregando algunos beneficios cosméticos. Sin embargo, el uso de la radioterapia ha implicado un riesgo de efectos secundarios agudos y crónicos que potencialmente pueden traducirse en morbi-mortalidad importante y/o reducir la calidad de vida de los pacientes (Joiner & van der Kogel, 2009).

Durante el desarrollo de la radioterapia se han implementado diversas herramientas con el fin de obtener mejores resultados curativos y evitar la recurrencia, siempre limitados para evitar el daño a tejido sano debido a la radiación ionizante. Recientemente, los avances en la radioterapia guiada por imagen y la intensidad modulada se han convertido en las herramientas por

excelencia para los tratamientos implementados en la clínica. La radioterapia sin filtro de aplanado (RT-FFF) es uno de estos avances que se ha comercializado recientemente de forma más general; ésta es una técnica que, entre otras cualidades, permite entregas de tratamiento con tasas de dosis hasta 4 veces más altas que las convencionales. Sin embargo, este cambio podría cambiar la respuesta radiobiológica. Estos cambios pudieran modificar los efectos tempranos y tardíos observados en el tejido sano, por lo que se debe investigar a detalle los efectos radiobiológicos de las nuevas tasas de dosis usando modelos animales (Favaudon et al., 2014; Vozenin et al., 2019).

I.1. Justificación.

El efecto de la tasa de dosis es un fenómeno conocido entre los profesionales de la radiobiología y radioterapia. En el caso de la radioterapia externa, los tratamientos de RT-FFF pueden producir un efecto distinto al reportado para tasas de dosis convencionales debido al aumento de tasa de dosis. Este efecto repercute en respuestas radiobiológicas distintas por parte del tejido sano, debido a los tiempos de reparación celular y de la respuesta inmunitaria.

Existen múltiples efectos secundarios, adicionales al beneficio en el control tumoral, que comprometen la calidad de vida (ya sea temporal o permanentemente) y que se presentan durante o después de los tratamientos de radioterapia. En general, para el caso de la irradiación holocraneal, se ha reportado una relación entre el esquema de tratamiento administrado con la disminución de capacidades cognitivas. La inflamación crónica tardía o también llamada neuroinflamación es una condición que tiene la capacidad de acelerar la neurodegeneración y con ello causar una disminución de capacidades cognitivas, afectando la calidad de vida de los pacientes.

Cualquier cambio en un esquema de tratamiento, como lo es la modificación de la tasa de dosis, debe ser verificado con el fin de mostrar su calidad superior en lo que respecta a la respuesta del tejido, o al menos, demostrar una equivalencia. La búsqueda de esta verificación del tratamiento no sólo se enfoca en una respuesta del tejido tumoral en términos de su efecto tumoricida, sino también una respuesta del tejido sano en conjunto con la respuesta inmune, observada a través de sus efectos secundarios.

Entonces surge la pregunta acerca del aumento de la tasa de dosis experimentado cuando se usan haces sin filtro de aplanado durante la entrega de un tratamiento holocraneal ¿este cambio es capaz de generar efectos secundarios distintos en comparación con los tratamientos a la tasa de dosis convencional? Esta interrogación se aborda utilizando un modelo de rata y evaluando el tratamiento sólo en el tejido sano de la parenquima cerebral irradiada.

Capítulo II. Antecedentes.

II.1. Física de la Radioterapia

La radioterapia es una disciplina que involucra las ciencias de la física y la biología junto con la medicina para utilizar las propiedades de la radiación ionizante con fines terapéuticos, principalmente contra el cáncer. Esta disciplina parte de los principios fundamentales de la biología del cáncer, la interacción y el efecto de la radiación con el tejido tumoral y el tejido sano, así como los principios físicos de la radiación ionizante con un enfoque terapéutico (Halperin et al., 2018).

El objetivo principal de la radioterapia es entregar una dosis de radiación prescrita de manera precisa a un volumen definido con el mínimo de daño al tejido sano circundante. Se busca la erradicación del tumor, una mayor calidad de vida y/o una prolongación de la esperanza de vida a un costo razonable. La implementación del tratamiento requiere de una planeación y proceso meticuloso en cuanto a su control de calidad y administración para que los beneficios de este tratamiento pueda ser alcanzado (Halperin et al., 2018; Khan et al., 2016).

II.1.1. El Acelerador Lineal

Uno de los dispositivos más usados para la entrega de radiación ionizante en la radioterapia es el acelerador lineal o linac (por sus nombre en inglés) el cual permite la generación de electrones y fotones de alta energía para uso clínico. Los fotones producidos en el linac (rayos X) pertenecen a la categoría de radiación electromagnética ionizante, donde el término *radiación* se aplica a cualquier emisión y propagación de energía que viaja a través del espacio en forma de ondas electromagnéticas o partículas y tienen la capacidad de ionizar el medio. La producción de

rayos X ocurre a través de dos mecanismos distintos: La generación de *rayos X característicos* y los rayos X de frenado o *Bremsstrahlung* (Khan & Gibbons, 2014).

Los rayos X característicos surgen después de que un electrón con energía cinética suficiente interacciona (de forma electromagnética) con los electrones que conforman el blanco. Debido a esta interacción, los electrones de los orbitales atómicos del medio reciben la energía suficiente para ser liberados e ionizar el átomo. La vacancia generada se restaura utilizando electrones de capas posteriores, pero en el proceso de cambio de orbitales electrónicos se emite energía en forma de radiación electromagnética. Se denominan rayos X característicos porque la energía irradiada es característica del elemento que generó el proceso (Khan & Gibbons, 2014).

Por otro lado, los rayos X de frenado son fotones que resultan de “colisiones radiativas” (interacciones electromagnéticas) entre electrones de alta velocidad y el campo eléctrico del núcleo de los átomos que forman el medio. Al pasar cerca del núcleo, el electrón cambia su dirección original debido al campo eléctrico y pierde energía de acuerdo con la teoría general de electromagnetismo. Debido a que un electrón puede sufrir el proceso de *Bremsstrahlung* con pérdida parcial o total de su energía cinética dada por la probabilidad, el espectro de energía de los fotones es continuo y alcanza un valor máximo igual a la energía cinética de los electrones. La dirección de emisión de estos fotones depende de la energía del electrón. Para los electrones con más de 1 MeV la dirección de los fotones es preferencialmente en la misma dirección de los electrones incidentes. Se buscan blancos de un espesor capaz de absorber la mayoría de los electrones incidentes y emitiendo los fotones del lado opuesto al que inciden, llamados blancos de transmisión. La eficiencia de la conversión de energía cinética incidente en el blanco que se transforma en rayos X de frenado varía del 35 al 95% para electrones de algunos MeV, mientras que el resto lo hace en forma de calor (Attix, 2004; Khan & Gibbons, 2014).

El linac es un equipo que utiliza ondas electromagnéticas estacionarias de alta potencia en la región de microondas, para acelerar partículas cargadas (específicamente electrones). Éstos viajan a través de un tubo de aceleración, elevan su energía cinética y posteriormente se convierte en fotones de rayos X de frenado usando un blanco de tungsteno. En el cabezal del linac se encuentran el blanco de los electrones, el filtro de aplanado, la cámara de ionización, el colimador primario y secundario, así como el sistema de luz (Figura II-1). El cabezal además contiene un blindaje con la función de proteger de la radiación ionizante generada del proceso y que es emitida a direcciones no deseadas (Khan & Gibbons, 2014).

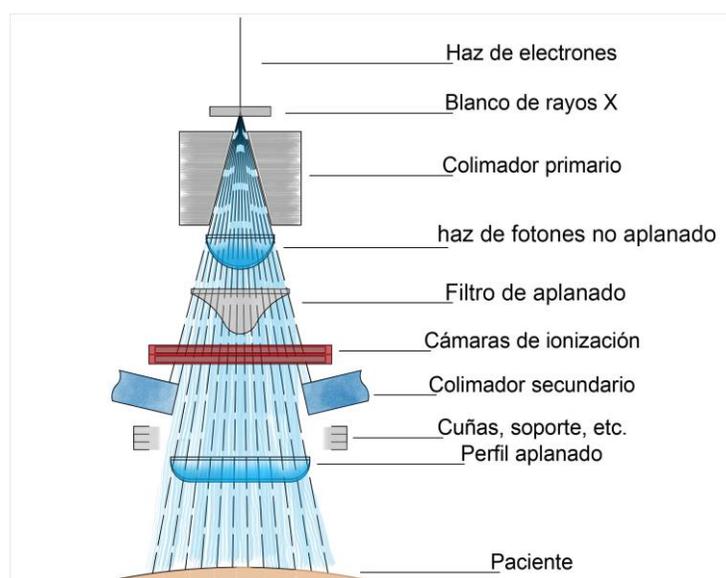


Figura II-1. Esquema general de la producción de R-X de frenado en el cabezal de LINAC, imagen tomada y modificada de (Khan & Gibbons, 2014)

Los fotones generados pasan por un colimador primario fijo colocado inmediatamente después del blanco. El haz colimado se encuentra con el filtro de aplanado, que es un dispositivo que tiene la función de hacer que la distribución de la fluencia de los fotones de rayos X sea uniforme en una sección transversal al haz a una profundidad de referencia. El sistema de monitoreo de dosis, como su nombre lo dice, tiene la función de registrar y controlar la tasa de

dosis, la dosis integral y la simetría del haz de fotones que pasa a través de ella; éste generalmente consiste en dos cámaras de ionización plano-paralelas selladas y con circuitos independientes. Posteriormente, el haz aplanado es colimado por un conjunto de quijadas movibles que entregan rectángulos generalmente desde 0×0 hasta 40×40 cm² proyectados en isocentro. Adicionalmente los equipos modernos cuentan con un sistema de colimación multihojas MLC (por sus siglas en inglés). Este tipo de colimación permite la entrega de haces de intensidad modulada (Khan & Gibbons, 2014).

II.1.2 Radioterapia sin Filtro de Aplanado

Con la introducción de la modalidad de Radioterapia de Intensidad Modulada IMRT (por sus siglas en inglés), que consiste en una aplicación modificada de la afluencia de radiación a través de la segmentación del haz (también conocidos como beamlets) con el uso del colimador multihojas y diferentes ángulos de incidencia, resulta en un tratamiento con mayor conformidad de la dosis en comparación con las técnicas en 3D. Este tipo de tratamientos consisten en utilizar el colimador multihojas MLC en combinación con los algoritmos de cálculo y optimización de la planeación de tratamientos, para modificar la intensidad del haz de radiación dentro de cada haz incidente. Esta combinación resulta en subdividir el haz en pequeños segmentos y modulando cada uno para lograr distribuciones de dosis absorbidas óptimas, mayor conformidad de la dosis absorbida y obteniendo la misma homogeneidad dentro del volumen objetivo (ICRU, 2010). Esta modalidad de tratamiento tiene como principal beneficio una disminución la dosis recibida en tejido sano circundante al volumen objetivo. Sin embargo, el uso de un perfil de de radiación modificado y modulado a través de segmentos pequeños, un haz con fluencia uniforme puede no ser requerido (King et al., 2013; Xiao et al., 2015).

Como se mencionó en la sección anterior, el filtro de aplanado se coloca entre el colimador primario y las cámaras de ionización. Además de generar un perfil homogéneo, el filtro reduce la tasa de dosis y es de las principales fuentes de radiación dispersa. Esta radiación dispersa llega a valores de hasta un 10% de la afluencia total dentro del campo de tratamiento sobre el paciente. La modalidad de radioterapia sin filtro de aplanado RT-FFF (por sus siglas en inglés) surge como propuesta de tratamiento y permite disminuir el tiempo de haz encendido al aumentar la dosis entregada por pulso en el acelerador, también disminuye la radiación dispersa generada y entrega un haz de fotones más estable (King et al., 2013; Sharma, 2011).

Múltiples estudios se han enfocado en la descripción dosimétrica de los haces utilizados en RT-FFF. Se ha demostrado un incremento substancial de la tasa de dosis de 2 a 4 veces más en comparación con los tratamientos convencionales. Este aumento de la tasa de dosis lo presentan a través de una simulación los autores Parsai y colaboradores en la Figura II-2. Existe también una reducción en la dispersión lateral con respecto a los tratamientos con filtro de aplanado, lo que provee de un mayor control sobre los gradientes en las fronteras del blanco. Esta modalidad de tratamiento presenta una modificación del espectro de los fotones que provoca un desplazamiento en el valor de profundidad de dosis máxima en agua alrededor de 2 mm hacia la superficie. En conjunto, todas estas cualidades se traducen en una mayor conformación espacial de la dosis al eje central del haz y una interacción menor con los componentes del cabezal, como por ejemplo las quijadas. Este fenómeno se ve reflejado en una variación del valor de radiación dispersa en el cabezal del 1.5% en comparación con un valor de 8% para el haz aplanado, para distintos tamaños de campo (Aoki et al., 2018; Parsai et al., 2007; Sharma, 2011).

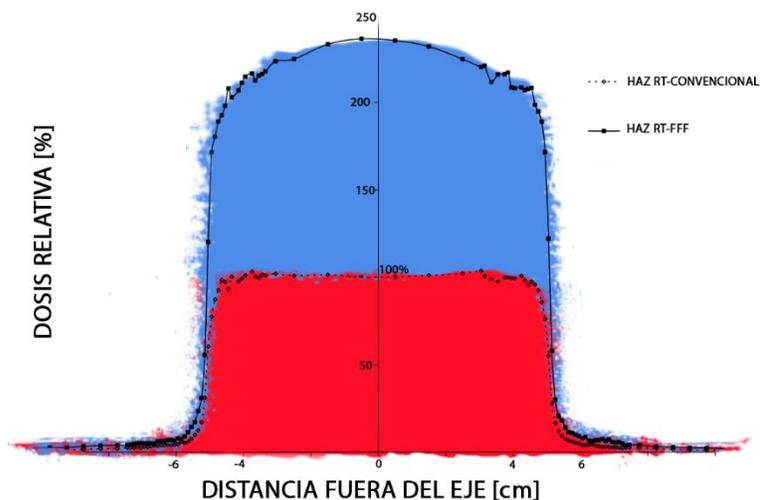


Figura II-2. Comparación entre perfiles de haz de fotones de 6 MV. Los datos fueron obtenidos a través de simulaciones Monte Carlo para un equipo estándar. Los parámetros fueron campo de $10 \times 10 \text{ cm}^2$ en profundidad d_{max} . Ambos perfiles están normalizados al valor de dosis en el eje central para el haz convencional. Imagen tomada y modificada de (Parsai et al., 2007).

Se han reportado múltiples trabajos que buscan describir la implementación clínica segura y eficaz de los tratamientos RT-FFF usando modalidades IMRT y VMAT (Radioterapia de arco volumétrico modulado). Ejemplos de estos trabajos se centran en su cualidad de reducción de tiempo y dosis periférica superficial. También muchos trabajos han enfocado sus esfuerzos en evaluar la aplicación de los tratamientos en parámetros obtenidos a partir de los planes realizados utilizando ambas modalidades. En estos trabajos, los parámetros comparados entre ambos tratamientos son la cobertura de PTV, el índice de conformidad y el índice de homogeneidad (Bhushan et al., 2019; Georg et al., 2011; Stathakis et al., 2009).

Aoki y colaboradores evaluaron la respuesta clínica de los pacientes tratados con y sin filtro de aplanado para tratamientos de cáncer de pulmón. En sus conclusiones resaltan que no se vieron reflejados beneficios directos del uso del haz sin filtro de aplanado en la respuesta clínica. Por otro lado, García-Hernández y su grupo de trabajo analizaron la dosis superficial periférica tras tratamientos con y sin filtro de aplanado; observaron diferencias en los valores al medir cerca del borde del campo, pero a distancias intermedias los resultados no son claros. Ambos

autores, así como otros, destacan la importancia de verificación de la información reportada a través de metodologías más robustas (Aoki et al., 2018; García-Hernández et al., 2020; Parsai et al., 2007).

Tras comparar los planes obtenidos utilizando ambas modalidades, diversos autores, entre ellos Bhushan y colaboradores, han discutido los resultados obtenidos tanto en cobertura como distribución de dosis en órganos de riesgo. Concluyen que se obtienen valores semejantes con base en la cobertura, conformidad y homogeneidad entre los haces convencionales y los haces sin filtro de aplanado tanto en técnicas de IMRT como VMAT. Los planes han sido evaluados en múltiples regiones del cuerpo, desde tumores en la región pélvica como próstata y ginecológicos, hasta tratamientos en cráneo (Bhushan et al., 2019).

Muchos autores resaltan que para un uso efectivo y eficiente del haz FFF, la tecnología del MLC necesita ser modificada. La intensidad del haz FFF disminuye abruptamente con la distancia fuera del eje para grandes campos abiertos, lo que requiere la modulación dependiente de la distancia para administrar una dosis uniforme al tumor. Mientras se ejecuta la modulación del haz mediante MLC, se requieren unidades de monitor más grandes que aumentan la fuga y disminuyen la ventaja de usar el haz FFF. Este efecto es significativo en la IMRT dinámica, en objetivos fuera del eje y objetivos de gran volumen. Diversos autores han coincidido en que el potencial del aumento de la tasa de dosis en RT-FFF no puede ser explotado debido a la limitación de la velocidad del gantry y los elementos de colimación (Georg et al., 2011; Koivumäki et al., 2016; Sharma, 2011; Treutwein et al., 2020).

Además de las consecuencias en la planeación sin filtro de aplanado antes mencionadas, la complejidad de la implementación incluye la necesidad de revisar los protocolos de dosimetría

existentes para el haz FFF. La definición convencional de penumbra no es aplicable al haz FFF por lo que éste requiere una modificación, entre otros conceptos. En resumen, aunque hay una serie de ventajas de usar un haz FFF, especialmente para técnicas avanzadas de radioterapia, existen algunas limitaciones y desafíos que deben abordarse para establecer este haz como una alternativa al haz usando filtro de aplanado (Sharma, 2011).

Se ha descrito los resultados de la puesta en servicio obtenidos con el sistema *Varian TrueBeam* en modo FFF y el algoritmo analítico anisotrópico AAA. Sin embargo, en realidad se sabe poco acerca de la precisión del suministro a estas altas tasas de dosis, particularmente para planes de tratamiento complejos con movimiento simultáneo de apertura de MLC (Kalantzis et al., 2012). Kalantzis y colaboradores realizaron un estudio de comparación cuantitativa en la administración de dosis de *Varian TrueBeam* en modo RT-FFF para tasas de dosis bajas y altas en tratamientos de alta dosis por fracción y esquemas de dosis única utilizando haces de intensidad modulada. En conclusión, parece que hay un error dosimétrico de $\sim 0.3-0.4\%$ introducido por los tratamientos RT-FFF de alta tasa de dosis, asumiendo como estándar de oro los resultados de las mediciones de la cámara de ionización. No se encontraron discrepancias adicionales dependientes de la tasa de dosis de la entrega de VMAT. Se espera que los efectos biológicos y clínicos debido a las pequeñas diferencias de dosis relativas entre las entregas de alta y baja tasa de dosis sean mínimos (Kalantzis et al., 2012).

II.1.3 Planeación en Radioterapia

Varios de los puntos abordados en la sección anterior respecto a la evaluación del beneficio en la RT-FFF requieren la introducción de los pasos esenciales que se encuentran en radioterapia. Para la impartición correcta y precisa de los tratamientos con el linac, la Radioterapia cuenta con el proceso de planeación. La planeación de tratamiento involucra la determinación de los

parámetros óptimos que requiere el linac de acuerdo con el control y manejo de la enfermedad del paciente. Estos parámetros incluyen la delimitación del volumen a tratar y el tejido sano circundante (de acuerdo con guías internacionales), la dosis y demás información del esquema de tratamiento, así como la configuración óptima del equipo empleado y sus características particulares de acuerdo con el equipo generador de radiación con el que cuenta el centro, así como las características especiales del paciente en cuestión. El producto final de este proceso es el plan general de entrega de tratamiento que se seguirá de forma precisa y meticulosa a lo largo de los días que se requieran (Khan et al., 2016).

El primer paso es la simulación del tratamiento para el paciente; es el proceso del cual depende y se basa la segmentación de los volúmenes y la planeación de entrega de tratamiento. Se compone del posicionamiento e inmovilización de forma reproducible del paciente. La precisión del tratamiento de radioterapia entregado es altamente influenciada por la calidad en el proceso de simulación. En la actualidad, el proceso de simulación consiste en los equipos más sofisticados de tomografía computada CT con imágenes de alta calidad, fusión de técnicas de imágenes obtenidas por resonancia magnética nuclear o medicina nuclear y el empleo de dispositivos de inmovilización adecuados (Khan et al., 2016). El siguiente paso en el proceso de planeación consiste en la determinación de los volúmenes de interés en el tratamiento. Éstos incluyen el volumen blanco de tratamiento, así como los órganos de riesgo o estructuras críticas. En los reportes de la Comisión Internacional de Unidades y Medidas de Radiación ICRU (por sus siglas en inglés) a través de los reportes 50, 62 y 71, se describen los distintos volúmenes necesarios, así como su determinación de forma adecuada (ICRU, 1999). Las estructuras más importantes consisten en el *volumen blanco de planeación* PTV y los *órganos en riesgo* OAR (ambos por sus siglas en inglés). Las modalidades de imagen tienen un papel crucial en la

localización y delimitación de estas estructuras, tales como la imagenología por resonancia magnética MRI, tomografía por emisión de fotón único SPECT y la tomografía por emisión de positrones PET. La fusión de estas imágenes con las obtenidas en CT proveen de una segmentación de volúmenes de forma más precisa respecto a la delimitación únicamente usando las imágenes de CT, ya que indica la ubicación del volumen tumoral debido a sus propiedades de captación y/o respuesta a la resonancia en comparación con las del tejido sano (Khan et al., 2016).

II.1.3.A. Algoritmos de planeación de tratamiento para haces de fotones

Después de la adquisición de las imágenes y la segmentación de las estructuras, se continúa con el proceso virtual de resolución de cálculos. Este proceso consiste principalmente en la determinación de las características y los parámetros de los haces que se emplearán en el tratamiento, así como los cálculos de dosis. Las configuraciones del ángulo de cabezal, ángulo del colimador secundario y los ángulos de la mesa de tratamiento deben ser evaluadas para alcanzar la cobertura de dosis en el PTV necesaria y disminuyendo en lo mínimo posible la dosis recibida en OARs. Los sistemas de planeación más recientes utilizan la planeación inversa para la optimización a partir de determinados valores de dosis-volumen en PTV y OAR (Khan et al., 2016).

Los algoritmos de cálculo de dosis empleados se pueden clasificar en dos categorías: empíricos y basados en modelos. Los primeros partían de la descripción de haces a través de las mediciones realizadas en maniquí de agua y empleando distintos modificadores del haz, como son las cuñas. Con el surgimiento de la radioterapia conformal en 3 dimensiones 3D-CRT, los cálculos de dosis utilizan la información contenida en las imágenes de CT a través de la densidad electrónica del medio. Esto permite que la mayoría de los equipos de planeación utilicen

algoritmos de cálculo basados en modelos. Entre los modelos propuestos y comercialmente más usados se encuentran los cálculos basados en Monte Carlo y los modelos basados en la ecuación lineal de transporte de Boltzmann (Khan et al., 2016).

En los modelos computacionales para los cálculos de dosis se tienen distintas formas de abordar la determinación de la dosis de radiación recibida por haz primario, por dispersión en cabezal, dispersión dentro del paciente, así como todas las propiedades con las que cuenta el paciente como las heterogeneidades. La técnica de Monte Carlo consiste en el uso de distribuciones de probabilidad bien establecidos que gobiernan la interacción de los fotones y electrones con la materia para simular su transporte. El proceso que va desde la generación de la radiación hasta su interacción con el paciente es dividido en distintas fases, y cada una de éstas genera archivos en el espacio-fase para facilitar los cálculos y modificaciones posteriores (Khan et al., 2016).

Por otro lado, diversos autores han implementado una solución numérica de la ecuación de transporte de Boltzmann y ha sido comercializado como el algoritmo ACUROS XB® (Varian Medical Systems, Inc., Palo Alto, CA, USA), ofreciendo una buena distribución de dosis en tiempos reducidos en comparación con los algoritmos Monte Carlo. La ecuación puede resolverse de forma numérica discretizando el fenómeno de forma espacial, angular y con coordenadas de energía. Este algoritmo es uno de los que se emplea comercialmente en el sistema de planeación *Eclipse* de *Varian Medical Systems*. Cada uno de estos algoritmos de cálculo deben plantearse las modificaciones necesarias para incluir los haces sin filtro de aplanado RT-FFF (Khan et al., 2016).

II.1.4. Evaluación de Plan de Tratamiento

Una vez obtenidos los cálculos de dosis en el tejido, se continúa con la evaluación del plan de tratamiento. La precisión requerida en la impartición de estas técnicas empleadas ha aumentado el uso de imágenes de verificación durante los tratamientos de radioterapia. Estos desarrollos han estimulado sofisticados sistemas de planeación de tratamiento que proporcionan información relevante en la evaluación de la extensión del tumor, la definición del volumen objetivo, la delineación de tejidos normales y evaluación crítica del plan de tratamiento, entre muchos otros beneficios. El conocimiento de las relaciones entre distribuciones de dosis, variables médicas (particular de cada paciente y sus tratamientos previos) y estudio de las complicaciones en el tejido sano irradiado continúa creciendo, así como la documentación y seguimiento de los pacientes, lo que permite un análisis más completo (Halperin et al., 2018; Khan et al., 2016).

La revisión de las curvas de isodosis sobre el CT del paciente es la herramienta de principal para la evaluación de los tratamientos de radioterapia. Un método cuantitativo para calificar la planificación del tratamiento es crucial para administrar una dosis óptima al tumor con la mayor protección de tejidos normales. Este tipo de valores cuantitativos incluyen parámetros físicos como la dosis máxima D_{max} , dosis promedio D_{prom} , entre otros (Halperin et al., 2018; Khan et al., 2016). Los histogramas dosis volumen o DVH proporcionan un resumen completo de toda la matriz de dosis 3D, que muestra la cantidad de volumen objetivo o estructura crítica que recibe más de un nivel de dosis especificado. Debido a que un DVH no proporciona información de dosis espacial, no puede reemplazar los otros métodos de visualización de dosis; solo puede complementarlos (Halperin et al., 2018). Recientemente, han cobrado importancia los “modelos biológicos” para representar la probabilidad de daño bajo determinada condición. Sin embargo, continúan en evolución debido al mejoramiento en las técnicas estadísticas empleadas. Entre

estos modelos biológicos se encuentran los modelos TCP y NTCP que se explicarán brevemente en la sección II.2.1. (Khan et al., 2016; King et al., 2017).

Es importante resaltar que la información clínica relacionada a la aplicación de las técnicas de radioterapia, así como los beneficios y posibles complicaciones debido al tratamiento debe estar en continua actualización, construyendo guías de buena práctica basadas en evidencias. Las evidencias se van construyendo con investigaciones como la que se presentará en este trabajo, aportando pequeñas piezas de un gran rompecabezas que es la práctica. Actualmente las referencias se enfocan en esquemas de tratamiento convencionales, por lo que existe muchas áreas de revisión como los esquemas hipofraccionados, la radioterapia pediátrica, entre otros. También es importante resaltar la evaluación de las técnicas más avanzadas en la entrega de tratamiento y la medicina personalizada (Khan et al., 2016). Entre estas técnicas avanzadas del tratamiento se debe incluir la RT-FFF, sus efectos sobre tejido tumoral y sobre tejido sano. La evaluación de todos estos parámetros debe incluir estudios radiobiológicos, que se explicarán a profundidad en la sección siguiente.

II.2.Efectos Biológicos de la Radioterapia

La radiobiología es fundamental en la implementación de la radioterapia, ya que provee las bases conceptuales a partir del estudio y experimentación, identificando los mecanismos y procesos de respuesta del tejido tumoral y tejido sano como lo son la hipoxia, la reoxigenación y los mecanismos de reparación celular. Dicho conocimiento ha resultado en nuevas estrategias de tratamiento y en los protocolos usados en el área clínica (Joiner & van der Kogel, 2009).

Cuando la radiación se absorbe en un medio biológico, las ionizaciones generadas se localizan a lo largo de la trayectoria de las partículas cargadas, dependiente del tipo de radiación que las

generó. La radiación se expresa en términos de la dosis absorbida, como se mencionó anteriormente, pero el mismo valor de dosis absorbida no significa el mismo daño biológico generado, dependiente del tipo de radiación ionizante involucrada. Para abordar este efecto, se define el valor de *Efectividad Relativa Radiobiológica* (RBE por sus siglas en inglés). El valor se define como la relación entre la dosis absorbida de rayos X con respecto a la dosis absorbida de un tipo de radiación conocido que genera el mismo daño biológico (Hall & Giaccia, 2006; Steenken et al., 2015).

Por otro lado, la irradiación de cualquier sistema biológico genera una sucesión de procesos que difieren enormemente en la escala temporal en que suceden. Un esquema de la gran diferencia en el tiempo en que se manifiestan diversos efectos se muestra en la Figura II-3. La fase física consiste en la interacción de la radiación ionizante y partículas cargadas con los átomos que componen el organismo. La fase química describe el periodo en que los átomos afectados de las moléculas reaccionan con otros componentes de la célula a través de reacciones químicas rápidas (Joiner & van der Kogel, 2009).

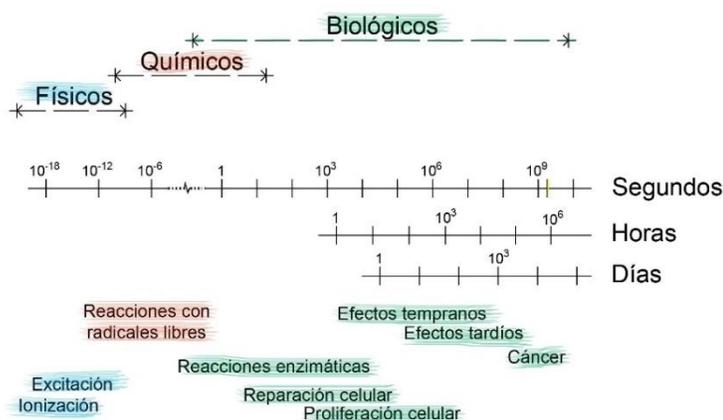


Figura II-3. Escala temporal de los efectos de la radiación ionizante en un sistema biológico, imagen tomada y modificada de (Joiner & van der Kogel, 2009)

La fase biológica abarca todos los procesos siguientes, incluyendo reacciones enzimáticas en los componentes dañados o la muerte celular cuando el proceso de reparación no es efectivo. Sus consecuencias se pueden observar desde horas o hasta meses después de la exposición a la radiación ionizante. El efecto de la radiación ionizante puede causar un amplio rango de lesiones, principalmente en el ADN como la ruptura de una de sus cadenas (monocatenaria), la ruptura en las dos cadenas (bicatenario) o daño a las bases que conforman esta molécula (Wondergem, 2010).

En principio, la radioterapia se basa en los procesos que forman parte de las respuestas del sistema biológico que comúnmente se conocen como las 4 R's: reparación, reoxigenación, repoblación, así como la redistribución. En la radioterapia externa convencional, los estudios se realizan considerando una tasa de dosis entre 1 a 5 Gy min^{-1} y dosis de 2 Gy, por lo que esta escala de tiempo abarca la fase química y primeras reacciones bioquímicas principalmente. Los procesos biológicos se incluyen con la reparación y la reoxigenación de las células, sin dar oportunidad a otros procesos como la repoblación o redistribución dentro del tiempo de irradiación.

El efecto del oxígeno es una característica importante de la radiobiología del tejido tumoral y tejido sano. Las células sin oxígeno son relativamente resistentes a la radiación, requiriendo hasta tres veces mayor dosis para generar el mismo efecto que las células bien oxigenadas. Se ha demostrado que existe un fenómeno de conservación de la razón de células hipóxicas dentro del tejido. Al eliminar células bien oxigenadas, ocurre una disminución de las células hipóxicas por el efecto que se conoce como *reoxigenación* (Khan et al., 2016).

Otros de los fenómenos presentes son la *re población* y la *redistribución*. La *re población* se basa en el proceso de división celular que existe en tejido sano y tumoral, teniendo este último una velocidad de división mayor. En los tratamientos de radioterapia se considera este efecto cuando se busca el equilibrio entre evitar los efectos del tejido sano de respuesta temprana y tener una menor división de células tumorales. Dentro de las etapas de división celular se encuentra el fenómeno de *redistribución*, ya que las células en fase de mitosis M son más sensibles a los daños por radiación, mientras que en fase de síntesis S tardía se vuelven más resistentes. Después de la primera sesión de irradiación, las células alcanzan una sincronización en las fases del ciclo celular, lo que permitiría que la siguiente irradiación fuera en una fase radiosensible. Aunque conocer los intervalos entre las fases ayudaría a entregar tratamientos más eficientes, aún no es algo que se pueda aplicar en el área clínica (Khan et al., 2016).

El aumento del conocimiento de los fenómenos radiobiológicos que ocurren y el tipo de tejido irradiado ha permitido que en el área clínica aproveche la mejor combinación de modos de tratamiento. Es un hecho bien establecido que múltiples dosis de radiación administradas durante un período de unas pocas semanas dan una mejor respuesta curativa en comparación con una sola irradiación; donde esta característica de entregar la dosis en múltiples sesiones se llama *esquema de fraccionamiento*. Las relaciones entre la dosis por fracción con el efecto biológico de una dosis única para los tejidos de respuesta tardía, los tejidos de respuesta temprana y los tumores proporcionan la información básica necesaria para optimizar la radioterapia de acuerdo con los parámetros físicos de dosis por fracción, el número de fracciones y parámetros biológicos como el tipo de tumor, el sitio anatómico entre otros (Joiner & van der Kogel, 2019; Khan et al., 2016).

Otro de los parámetros físicos que influye es el tiempo en el que se entrega la dosis, descrito a través de un valor denominado *tasa de dosis*. Un efecto que se relaciona con la tasa de dosis es bien

conocido desde la década de los 90. El trabajo de Hall y colaboradores describen un cambio en el efecto biológico que tiene el mismo valor de dosis recibida, cambiando la tasa de dosis empleada. Este fenómeno entonces se refiere a que aumentar el tiempo en el que se entrega la dosis tiene menor efecto biológico principalmente por los mecanismos de reparación celular de daño subletal (Hall & Brenner, 1991; Hall & Giaccia, 2006). La influencia de este mecanismo ocurre entre las tasas de dosis de 0.01 y 1 Gy min^{-1} . Por arriba o por debajo de este rango, el cambio de la sobrevida celular no se ve afectado por este fenómeno. La Figura II-4 representa los cambios experimentados debido a la tasa de dosis, conforme la tasa de dosis se reduce, la curva se vuelve una función exponencial. Se ha reportado que debajo de 1 Gy min^{-1} el efecto de la reparación celular cobra importancia, modificando la curva y volviendo la dosis menos efectiva. Cuando la dosis disminuye aún más, el efecto de redistribución en el ciclo celular provoca que la dosis vuelva a aumentar su efecto biológico. Tasas de dosis menores que o iguales a la tasa de proliferación celular disminuyen la eficiencia biológica drásticamente (Hall & Giaccia, 2006)

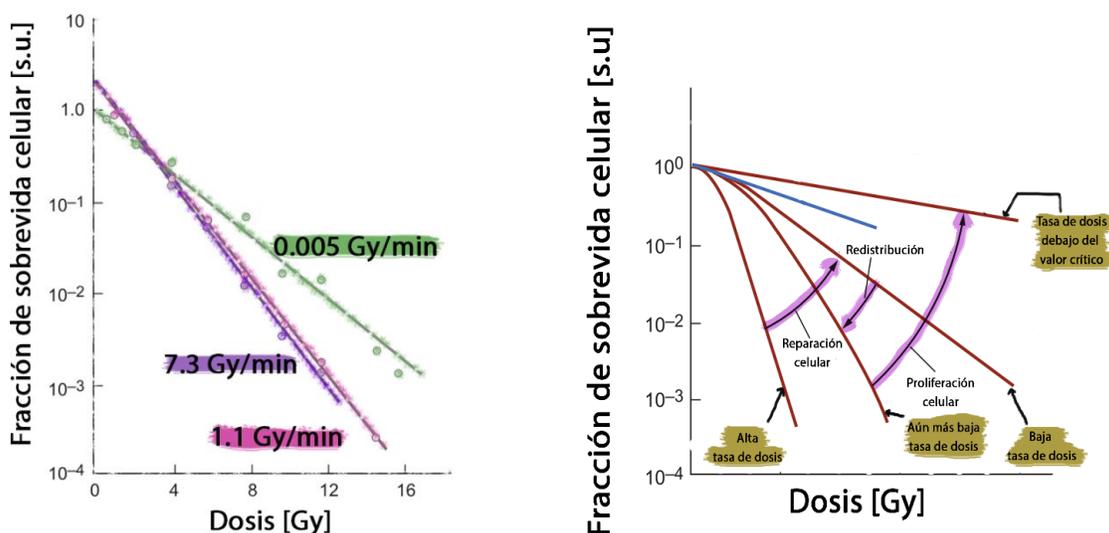


Figura II-4. Esquema del cambio de la sobrevida celular debido a los cambios en la tasa de dosis en experimentos *in-vitro*. La imagen de la izquierda representa las funciones exponenciales y su cambio entre tasas de dosis arriba de 1 Gy min^{-1} con respecto al cambio que tendría si la tasa de dosis es mucho menor del rango crítico. La imagen de la derecha representa los mecanismos celulares que provocan el cambio en las curvas de sobrevida. Imágenes tomadas y modificadas de la referencia (Hall & Giaccia, 2006)

II.2.1. Modelos de respuesta Radiobiológica

La planeación y tratamientos en radioterapia han evolucionado con el tiempo hacia técnicas optimizadas. Para alcanzar los objetivos de la radioterapia, el conocimiento preciso de las dosis tumorocidas y las tolerancias de varios tejidos sanos es la herramienta necesaria y útil. El desafío de los profesionales de la clínica es realizar tratamientos con un riesgo-beneficio positivo, optimizando simultáneamente el beneficio terapéutico junto con la calidad de vida, por lo que es importante conocer los factores particulares de cada paciente para realizar este balance. Desafortunadamente después de varias décadas de práctica, el conocimiento actual de algunos de estos valores proviene de la era previa a las técnicas de tratamiento por imagen, por lo que no está claro que las consideraciones con resultados obtenidos hace más de 20 años se puedan aplicar a la era actual de los tratamientos (Constine et al., 2019; Emami et al., 1991; Zeng et al., 2020).

Desde el inicio los planes de tratamiento se han realizado y evaluado usando valores tales como la dosis máxima y uniformidad para tejido tumoral y límites de dosis para el tejido normal, como se describió en la sección II.1.4. En la actualidad las deficiencias en el área de tratamiento con radioterapia provienen principalmente del inadecuado conocimiento de la información biológica y clínica necesaria para el diseño del tratamiento óptimo (Ling & Li, 2005). Incluso con la tecnología moderna y los desarrollos actuales, el conocimiento de las tolerancias para irradiación en condiciones particulares como en volúmenes parciales de tejido sano no es conocido y a veces solamente es estimado por los médicos oncólogos (Constine et al., 2019; Emami et al., 1991).

Como se describió en la sección II.1.4. además de mostrar gráficamente las distribuciones de dosis y los histogramas dosis-volumen, se han concentrado muchos esfuerzos para desarrollar

valores cuantitativos para la evaluación de planes, entre estos se encuentran los modelos de probabilidad de complicaciones de tejido sano NTCP por sus siglas en inglés (Yorke et al., 1993). De acuerdo con los autores de la publicación del AAPM *Point/Counterpoint* del 2005 (Ling & Li, 2005), los físicos médicos en radioterapia deben comenzar por entender aspectos biológicos del tejido sano y tumoral. Esto tiene como fin comprender las deficiencias de los tratamientos basados en dosis con respecto a los beneficios y debilidades de las propuestas de evaluación usando fundamentos biológicos. Finalmente, ambos autores coinciden con los beneficios a futuro que se obtendrán al implementar modelos biológicos, por lo que es necesario el desarrollo de dichos métodos para dirigir y apresurar la implementación de dichas técnicas.

La diversidad de los órganos existentes, la variedad en las complicaciones para cada órgano y las posibles combinaciones de parámetros terapéuticos en radioterapia como el fraccionamiento, el estatus fisiológico de dichos órganos al inicio del tratamiento, la edad y la enfermedad por la que pasa el paciente son algunos de los factores que hacen el tratamiento y elaboración de modelos biológicos se vuelva tarea complicada. Usando como ejemplo el sistema nervioso central, se ha reportado que el cerebro tiene un riesgo de 5% de radio necrosis después de una dosis de 60 Gy en una tercera parte del volumen total. Estos valores varían considerablemente debido a la localización del volumen irradiado, entre todas las consideraciones mencionadas anteriormente. Más detalles de los efectos de la radiación en el cerebro serán abordados en secciones posteriores (Khan et al., 2016).

El avance en el entendimiento de los mecanismos permite desarrollar e implementar ecuaciones y modelos que describan la dosis-respuesta incluso para una irradiación parcial de órganos. Aún con todos los esfuerzos realizados, es importante resaltar que el efecto en el tejido es altamente complejo y de naturaleza multifactorial, por lo que muchas preguntas siguen

pendientes de respuesta (Khan et al., 2016; Yorke et al., 1993). Muchos trabajos acerca la RT-FFF buscan abordar condiciones particulares con el fin de aportar valores de referencia o comparaciones con los valores obtenidos con la radioterapia convencional. Estos trabajos tienen un fundamento biológico que será abordado de manera más profunda en la sección II.4.2. A continuación se describen los modelos biológicos encontrados en la radioterapia y que son fundamentales para el físico médico que desempeña en el área clínica, así como los enfocados en investigación de radiobiología.

II.2.1.A. El modelo lineal cuadrático

El modelo radiobiológico más conocido en el área clínica es el Modelo Lineal Cuadrático LQ (por sus siglas en inglés). Este modelo surgió hace más de 50 años y ha sido considerado el modelo preferido tanto en la radiobiología experimental como en el uso clínico. Fue desarrollado con observaciones experimentales para relacionar el daño que sufre el ADN y el parámetro físico de dosis absorbida D ; incluye dos distintos tipos de efectos: los irreparables a través de un término α que es independiente del fraccionamiento y la tasa de dosis, y un término β que se refiere al daño reparable y que sí depende de la tasa de dosis y del número de sesiones del tratamiento. El modelo parte de la probabilidad del daño irreparable debido principalmente a un daño en ambas cadenas del ADN; como el daño irreparable tiene una probabilidad extremadamente baja de ocurrir, el modelo se rige por una distribución de probabilidad de Poisson (Joiner & van der Kogel, 2019; McMahon, 2019).

La expresión más común del modelo LQ describe la probabilidad de supervivencia celular tras una irradiación con valor de dosis única D . La fracción de supervivencia celular S se puede describir entonces mediante la ecuación siguiente

$$S(D) = e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

Ecuación 1

Donde α y β son parámetros particulares de cada tipo de célula y que se utilizan para describir su radiosensibilidad. Un valor importante que surge de la Ecuación 1 es cuando se tiene $d = \alpha/\beta$. El valor d describe un valor de dosis (expresado en Gy) en la cual la contribución del parámetro dependiente de D de forma lineal α y el parámetro dependiente de forma cuadrática β es idéntica. Este valor describe la forma que toma la curva de supervivencia en términos de la dosis absorbida, donde la fracción de supervivencia se presenta en escala logarítmica. Cuanto mayor valor α/β la contribución del término α es mayor, en caso contrario el valor β cobra mayor relevancia. Un ejemplo de estos valores se puede observar entre el tejido sano de respuesta tardía y el tejido tumoral, ya que de manera general el primero tiene valores bajos $\alpha/\beta \sim 3 \text{ Gy}$ mientras que para el tejido tumoral $\alpha/\beta \sim 10 \text{ Gy}$. Es importante reconocer que estos valores provienen de múltiples estudios en animales y el valor no es constante, por lo que debe ser considerado para los casos específicos del tejido a analizar (Joiner & van der Kogel, 2019).

En la práctica clínica, los esquemas de tratamiento son muy diversos, por lo que se buscó determinar modelos que relacionen la dosis recibida por fracción con el efecto biológico que genera. Con base en modelo LQ y la Ecuación 1 se puede calcular la *Dosis Biológicamente Efectiva* $BED_{\alpha/\beta}$ a distintas dosis por fracción d y número de fracciones n a través de la siguiente ecuación.

$$BED_{\alpha/\beta} = n \times d \times \left(1 + \frac{d}{\alpha/\beta} \right)$$

Ecuación 2

Los tratamientos cuyo valor BED sea igual obtendrán los mismos resultados biológicos. El valor de α/β son específicos para cada tipo de tejido. La Ecuación 2 asume que no existe reparación en el tiempo de entrega de la fracción n , mientras que en el tiempo entre fracciones la reparación es completa. Para tratamientos de irradiación más complejos se debe emplear ecuaciones para el valor BED con más términos (Chang et al., 2014; Joiner & van der Kogel, 2009; Khan et al., 2016). Es común además utilizar la Ecuación 2 para comparar tratamientos con distinta dosis por fracción, donde todos los esquemas a comparar se llevan a un mismo fraccionamiento que se ha adoptado como convencional que consiste en administrar 2 Gy por fracción. Al llevar planes de tratamiento con mayor o menor dosis por fracción (esquemas que se conocen como hipo e hiperfraccionados, respectivamente), a su equivalente biológica si es que recibiera dosis de 2 Gy por fracción, el valor obtenido se conoce como $EQD2$. Este valor presenta la ventaja que es el esquema más comunmente utilizado, por lo que es una buena referencia para el profesional clínico (Joiner & van der Kogel, 2019)

Es importante resaltar que el modelo LQ así como la Ecuación 2 representan una aproximación. Estas propuestas simplifican un fenómeno complejo y que requiere una revisión continua de valores como la razón α/β , por lo que existe un límite de confiabilidad para su aplicación. Aún con esto, el modelo se puede aplicar en la clínica teniendo un adecuado sistema de seguimiento y reporte de los cambios experimentados en respuesta temprana de tejido sano y control tumoral (Khan et al., 2016).

II.2.1.B. Modelos NTCP

En las técnicas actuales de evaluación de planes de tratamiento se han desarrollado métodos mediante los cuales la información biológica puede incorporarse para su consideración. Estos modelos matemáticos buscan predecir la probabilidad de complicación de tejido normal o *NTCP* y de probabilidad de control tumoral o *TCP* (ambos por sus siglas en inglés). Sin embargo, su propósito se ha enfocado principalmente en la investigación. Si bien los resultados cuantitativos proporcionados por los modelos tienen incertidumbres muy grandes y, por lo tanto, no predecirán ninguna de las cantidades con gran precisión, son útiles en términos de la optimización y evaluación de planes. Los modelos biológicos son esenciales para avanzar en un tratamiento paciente-específico (Joiner & van der Kogel, 2019). En general, el objetivo de los modelos *NTCP* es predecir la probabilidad de sufrir una complicación dada como función de la dosis (o mejor aún del valor *BED*). En estos modelos se buscan añadir características particulares como comorbilidades y tratamientos adyuvantes como quimioterapia (Khan et al., 2016).

Con todos estos modelos descritos, la información necesaria para la evaluación clínica aún se encuentra dispersa debido a que muchas veces la descripción sobre la distribución de dosis utilizada para determinar dicho modelo está incompleta en las referencias de complicaciones encontradas (Khan et al., 2016). Sin embargo y aunque la evaluación de complicaciones paciente-específico aún está en crecimiento, el objetivo en las planeaciones y posteriores evaluaciones es entregar tratamientos que continuamente implementen mejoras en la calidad basada en referencias de alto grado de confianza, donde los modelos *NTCP* sin duda jugarán un papel fundamental (Khan et al., 2016).

II.3.La Radioterapia en el Sistema Nervioso Central

La radioterapia en el sistema nervioso central SNC es uno de los tratamientos más comunes para tumores cerebrales primarios, metástasis en encéfalo, así como casos de malformaciones arteriovenosas (Ballesteros-Zebadua et al., 2013; Wong et al., 2019). Como consecuencia de la radiación ionizante, se experimenta un daño cerebral radio inducido RIBI (*radiation-induced brain injury*). Este tipo de daño se caracteriza por necrosis multifocal de materia blanca, neuroinflamación con microglía reactiva, entre otros (Cramer et al., 2019).

II.3.1.A.Irradiación Holocraneal.

La irradiación holocraneal, irradiación de encéfalo completo o por sus siglas en inglés WBRT (*whole-brain radiotherapy*) es una modalidad de tratamiento agresiva que es utilizada de manera frecuente en casos como lesiones primarias en cerebro, lesiones primarias en otro órgano con metástasis en cerebro, así como otras patologías distintas al cáncer. El régimen más utilizado consiste en un hipofraccionamiento de 30 Gy en 10 sesiones (3 Gy por fracción) (Ballesteros-Zebadua et al., 2013; Rades et al., 2010, 2011).

La delimitación de los volúmenes de tratamiento se realiza con base en los conceptos introducidos en los reportes 62 y 83 del ICRU (ICRU, 1999, 2010). El volumen de tumor o GTV (*gross tumor volume*) representa el volumen de la enfermedad identificable a través de las técnicas de imagen como las imágenes de CT o IRM. El volumen clínico blanco o CTV (*clinical target volume*) es el volumen en el que se incluye la extensión subclínica del tumor de forma microscópica. En el caso de las enfermedades en el cerebro, este volumen se limita hacia dentro del cráneo. El PTV descrito anteriormente en la sección II.1.3 incluye el CTV más el margen relacionado a la variación de tamaño y posición de éste mismo en relación con los puntos de referencia. En los casos de irradiación del sistema nervioso central no suele ser un gran

componente debido a la poca variabilidad anatómica de los volúmenes. Otro componente que se incluye en la selección de los márgenes del PTV es la incertidumbre del posicionamiento del paciente, que se mantiene entre 3 y 5 mm al utilizar los dispositivos de inmovilización óptimos, como las máscaras termoplásticas. En la irradiación holocraneal el volumen blanco PTV es la parénquima cerebral completa, con límite inferior hasta C2 y hasta la región posterior de la retina. Dependiendo del caso clínico puede o no incluir las meninges (Khan et al., 2016).

Los órganos en riesgo OARs en la irradiación del sistema nervioso central, al igual que en muchos otros sitios de irradiación, influyen de forma significativa la estrategia de planeación del tratamiento de radioterapia. El tallo cerebral y la médula espinal son dos de los órganos en riesgo más importantes debido a las consecuencias devastadoras que pueden ocurrir cuando se llega a superar la tolerancia reportada. Los valores de dosis toleradas en el tejido sano del cerebro y otros órganos han sido reportadas en múltiples referencias, recopiladas en la Tabla II-1

Tabla II-1. Tolerancia de tejido sano para los órganos en riesgo intracraneales. Valores reportados por QUANTEC y tomados de la referencia (Khan et al., 2016). Los valores D_{max} y D_{prom} se refieren a la dosis máxima recibida y la dosis promedio, respectivamente. La unidad cc significa centímetros cúbicos y es una unidad de volumen.

Órgano	Fraccionamiento convencional (2 Gy por fracción)	Hipofraccionamiento (1 fracción)
Cerebro	$D_{max} \leq 72 \text{ Gy}$	$D_{max} \leq 12 \text{ Gy en } 10 \text{ cc}$
Tallo Cerebral	$D_{max} \leq 59 \text{ Gy}$ 100% vol < 54 Gy	$D_{max} \leq 12.5 \text{ Gy}$
Cócleas	$D_{prom} \leq 35 \text{ Gy}$	$D_{max} \leq 14 \text{ Gy}$
Nervios ópticos / Quíasma	$D_{max} \leq 55 \text{ Gy}$	$D_{max} \leq 8 \text{ Gy}$

Médula Espinal	$D_{max} \leq 50 \text{ Gy}$	$D_{max} \leq 13 \text{ Gy}$
Laringe	$D_{prom} \leq 45 \text{ Gy}$	$D_{prom} \leq 13.5 \text{ Gy}$

WBRT ha sido probada como un tratamiento que presenta mejoras en los síntomas neurológicos y funcionales con mínima mortalidad. Diversos estudios concluyen que los tratamientos holocraneales aumenta la media de sobrevida hasta en seis meses, en comparación con un mes para aquellos pacientes de metástasis cerebral sintomáticos sin tratamiento. La tasa de respuesta va desde un 65% hasta 85% dependiendo del avance de las enfermedades, conservando las funciones neurológicas sin afectación hasta nueve meses después del tratamiento. Además de la sobrevida y el periodo libre de progresión intracraneal, el seguimiento que se le da a los pacientes incluyen la revisión de la calidad de vida, las funciones neurológicas y cognitivas y los efectos adversos típicos de la radioterapia (Tsao et al., 2018). Las nuevas modalidades de imagen como las distintas secuencias de IRM o las imágenes PET permiten que los tratamientos sean más focalizados, sin embargo en algunos casos el WBRT sigue siendo el estándar, como los casos de leucemia aguda, metástasis cerebrales y diagnósticos que requieran de irradiación craneoespinal (Khan et al., 2016).

Nuevos esquemas y técnicas de radioterapia para el tratamiento de cáncer y metástasis cerebral han sido desarrolladas, entre las que se pueden mencionar la radiocirugía estereotáctica y la irradiación holocraneal con protección a hipocampos. Estas nuevas técnicas deben ser consideradas de acuerdo con la expectativa de sobrevida del paciente; en general los casos con pronóstico de sobrevida más prolongado deben tratarse con los procedimientos que mejor controlen y mejoren su condición con el mínimo riesgo de efectos tardíos (Rades et al., 2018). Entre los trabajos que se han presentado respecto a estas nuevas prácticas se encuentran las

referencias tales como el RTOG 0933 (Mehta & Gondi, 2012) y NRG CC003 (Gondi et al., 2019) que incluyen mejoras a los protocolos tradicionalmente usados: aumentar el beneficio que experimentan con mayor preservación cognitiva (Khan et al., 2016).

II.3.1.B.Efectos de la Radiación Ionizante en el cerebro.

Aún tras el seguimiento del diseño óptimo de los tratamientos de radioterapia y altos estándares de calidad en planeación y en la aplicación descrita en los capítulos anteriores (secciones II.1.3 y II.1.4. , el tejido sano se ve necesariamente afectado por el tratamiento debido a múltiples razones, entre ellas el trayecto de los haces de radiación a través del cuerpo, vascularidades en el volumen del tumor e infiltraciones microscópicas de células malignas en estructuras sanas (Joiner & van der Kogel, 2009; Wondergem, 2010). Es entonces que la optimización de los tratamientos de radioterapia está asociada con la manifestación de los efectos secundarios, entre los cuales no se consideran aquellos que son consecuencias de una aplicación incorrecta del tratamiento. Las consecuencias de la radioterapia se pueden clasificar de muchas formas distintas, entre ellas se encuentra el tiempo en que ocurren estos signos de daño al tejido. Los efectos tempranos se observan en un periodo corto después de la irradiación, mientras que los efectos tardíos o crónicos se manifiesta al cabo de meses o incluso años después del tratamiento; los efectos tardíos experimentados no desaparecen de forma completa, permaneciendo como secuelas que afectan la calidad de vida (Chang et al., 2014).

Algunos autores incluyen una tercera clasificación conocida como efectos tempranos tardíos o tempranos retrasados (*early-delayed*) que van de 1 hasta 6 meses después de la irradiación y en general son reversibles. En esta última clasificación se encuentra, para el caso de irradiación de parénquima cerebral, la pérdida de la mielina de las fibras nerviosas. Este tipo de daño implica el mal funcionamiento del sistema nervioso central debido al papel que desempeña en la

conducción de los impulsos nerviosos, condición patológica que se denomina desmielinización transitoria (Ballesteros-Zebadua et al., 2013; Cramer et al., 2019; Lumniczky et al., 2017).

Los síntomas tempranos están basados en la incapacidad de las células de duplicarse debido a la muerte celular por la radiación, disminuyendo gradualmente su número total. Los efectos tardíos se pueden presentar en todos los órganos que reciben alguna porción de la dosis prescrita y regularmente se ven acompañados por el sistema inmune y por lo tanto se considera una respuesta compleja y multifacética (Joiner & van der Kogel, 2009). Tras una irradiación en el encéfalo, los efectos tempranos incluyen dolor de cabeza, náuseas y vómito debido al aumento de la presión intracraneal. Para los efectos tempranos tardíos se menciona somnolencia extrema, fatiga y deterioros cognitivos. Este proceso es regularmente acompañado de cambios inflamatorios ya sea inducidos por la radiación o por las señales y el cambio de composición que sufre el entorno. Los efectos tardíos son generalmente progresivos e irreversibles, y entre ellos se encuentra la radio-necrosis, anormalidades en la materia blanca y déficit neurocognitivos severos (Balentova & Adamkov, 2015; Lumniczky et al., 2017).

La inflamación mencionada, así como su consecuente reacción inmune, son mecanismos protectores del cuerpo en el cual los patógenos extraños y las células dañadas son eliminados para así restaurar el equilibrio homeostático. Aunque para el caso de la radiación, el daño al sistema nervioso central ha sido bien descrito en términos de criterios histológicos y funcionales, queda pendiente mucho por describir en la parte de radiobiología, bioquímica y celular.

Entre las hipótesis que describen el daño al sistema nervioso central se encuentra la hipótesis vascular y la hipótesis glial. Como consecuencia del daño generado por la RI sobre el sistema vascular, cambios en el espesor de los vasos, dilatación y aumento de la permeabilidad ha sido

reportada. La necrosis en la materia blanca se ha correlacionado con la aparición de anomalías vasculares (Tofilon & Fike, 2000). Otro objetivo del daño al SNC radioinducido son los oligodendrocitos y las células progenitoras a éstas, afectando su ciclo normal de sustitución. Se sabe que la irradiación del tejido cerebral activa la microglía y causa su infiltración al cerebro, produciendo especies reactivas de oxígeno ROS que continúan activando microglía. Sin embargo, ninguna de estas hipótesis es suficiente por sí solas para describir el fenómeno de daño al SNC por radiación (Lumniczky et al., 2017; Tofilon & Fike, 2000). El daño de la sustancia blanca, como producto de los mecanismos descritos, es una de las hipótesis que se aceptan como antecedente para la disminución de funciones cognitivas generada por RT (Pearlstein et al., 2006).

Además de la microglía, las células dendríticas son indispensables para la protección del SNC. Estas células se encuentran en ciertas regiones específicas del cerebro y se activan mediante señales liberadas por las neuronas dañadas. Cuando la barrera hematoencefálica se ve comprometida (debido al daño inducido por radiación) estas células dendríticas emigran al sistema linfático, promoviendo la activación de células T. El paso de los linfocitos y células T se ve facilitado cuando las células epiteliales del parénquima cerebral expresan ciertas moléculas de adhesión. Se ha demostrado una estrecha relación entre estas células T específicas y su continua anulación por los antígenos del sistema nervioso central en un fenómeno denominado como *autoinmunidad neuroprotectiva*. Existe evidencia que indica que fallas en este sistema de autoinmunidad genera una neurogénesis deteriorada, déficit cognitivo y enfermedades neurodegenerativas (Lumniczky et al., 2017).

El daño microvascular, la desmielinización, el daño directo a las neuronas y las células del parénquima cerebral de apoyo, el agotamiento de las células madre y los cambios en el

microambiente cerebral se han informado como componentes de la lesión cerebral inducida por radiación, en correlación con la reducción de capacidades cognitivas inducidas por radiación (Cramer et al., 2019). La Figura II-5 representa un esquema del microambiente celular que tienen las neuronas en condiciones normales y en condiciones de irradiación. Entre los estudios recientes, algunos han descrito que la teoría que describe enfermedades como el Alzheimer acerca del papel de los defectos vasculares en pequeños capilares también tiene un papel importante en la reducción de las capacidades cognitivas radio-inducidas (Tofilon & Fike, 2000; Yamada, 2016).

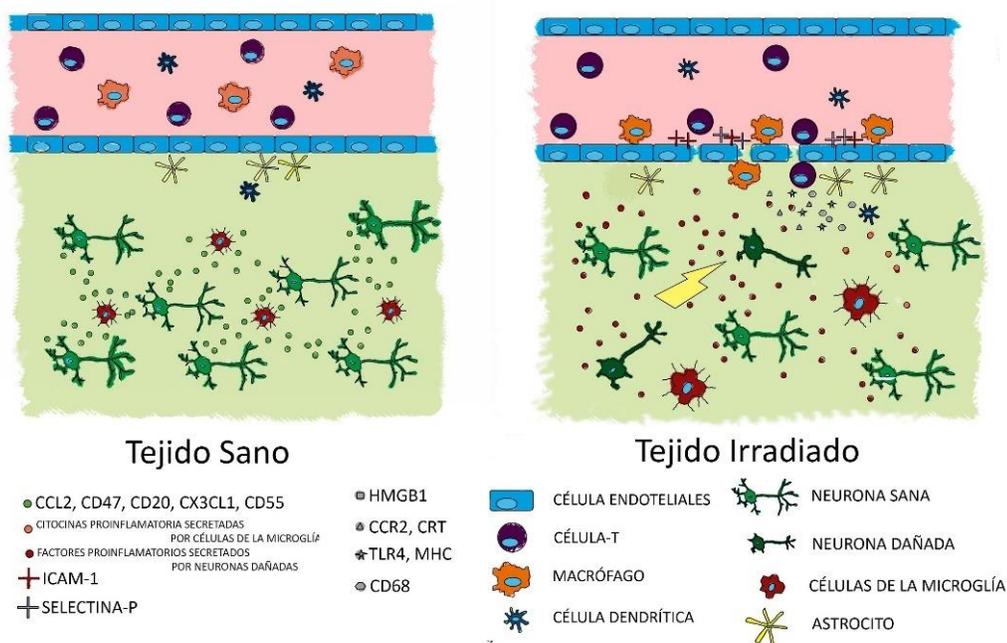


Figura II-5. Esquema general de la respuesta sistémica tras la irradiación de tejido sano cerebral, imagen tomada y modificada de (Lumniczky et al., 2017)

Como se ha mencionado anteriormente, el mecanismo radio-químico de la interacción de la radiación ionizante con el tejido vivo no está completamente descrito. La hipótesis más aceptada es que el agua intra y extracelular es el principal blanco de depósito de energía. La energía entonces es transportada a las moléculas cercanas, dependiendo de su sensibilidad. En el caso de

la irradiación del SNC, efectos como edemas y cambios en la permeabilidad de la barrera hemato-encefálica BBB (*blood-brain barrier*) no son totalmente descritos simplemente con la muerte celular radio-inducida (Ballesteros-Zebadua et al., 2013).

Otro de los procesos presentes en la irradiación en el sistema nervioso relacionados a los efectos tardíos tempranos observados se relacionan con la inhibición de la proliferación de las células neurales precursoras. Se ha demostrado que dosis en la escala de 2 Gy (dosis baja en comparación con la prescrita en irradiación holocraneal que rondan los 30 Gy) dañan de forma considerable la población de este tipo de células en la zona hipocampal. El daño se observa de forma dosis-dependiente tras la irradiación de encéfalo completo. La causa de este fenómeno se explica al perturbar el micro-ambiente celular necesario para la neurogénesis (Ballesteros-Zebadua et al., 2013). Este apartado será abordado con mayor detalle en secciones posteriores.

II.3.2. Efectos neuro-cognitivos inducidos por radiación

El deterioro cognitivo inducido por la radiación es considerado un efecto tardío que ocurre de semanas hasta 24 meses después del tratamiento. Se observa en el 30% de los pacientes 4 meses después de que pasan por un tratamiento de radioterapia parcial o sobre el cerebro completo, pero el número aumenta hasta un 90% si el paciente sobrevive más de 6 meses. Este valor es similar entre los pacientes que reciben RT craneal terapéutica y profiláctica (Cramer et al., 2019; Pearlstein et al., 2006). Histopatológicamente, la lesión tardía inducida por radiación se caracteriza por anomalías vasculares, edema perivascular, gliosis reactiva, desmielinización y, en última instancia, necrosis de la sustancia blanca, con una gravedad dependiente de la dosis y el volumen irradiado. Las secuelas neurocognitivas a largo plazo suelen ser progresivas e irreversibles. Éstas incluyen una amplia gama de síntomas clínicos, como neuropatía, encefalopatía, convulsiones, síncope, pérdida de memoria y ataxia que comprometen gravemente

la calidad de vida de los pacientes (Ballesteros-Zebadua et al., 2013; Constanzo et al., 2020; Pazzaglia et al., 2020).

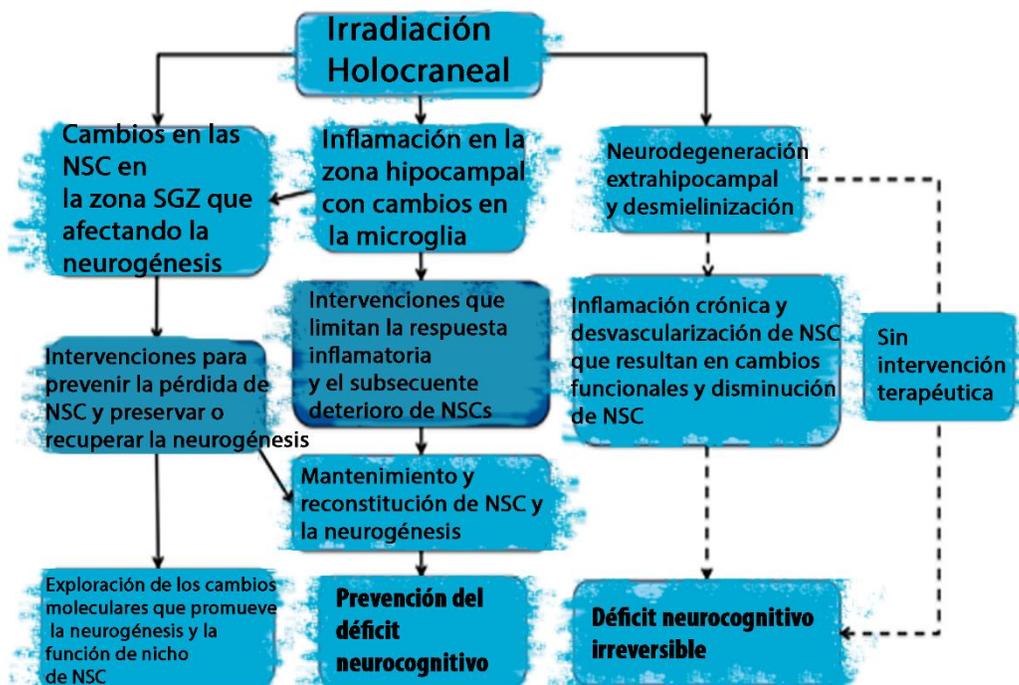
Aunque la literatura acerca de la relación entre los tratamientos holocraneales y el deterioro cognitivo radio inducido sigue en aumento, los tratamientos WBRT continúan siendo el estándar para tratar distintas patologías localizadas en el parénquima cerebral (Nguyen et al., 2020). El estado cognitivo general, la memoria y los déficits de atención son los casos que se reportan con mayor frecuencia (Pearlstein et al., 2006). Adicionalmente, los tratamientos WBRT triplican la tasa de demencia en pacientes menores a 65 años y disminuye el coeficiente intelectual IQ de los niños irradiados al paso de los años (Yamada, 2016).

Constanzo y colaboradores en su trabajo resaltan la importancia de la optimización en los tratamientos. Se requiere un mejor conocimiento del impacto específico de las regiones cerebrales irradiadas de acuerdo con su sensibilidad e interconectividad, así como evaluar su capacidad para recuperar sus funciones. En conclusión a su investigación, la irradiación cerebral puede tener un impacto significativamente diferente en los comportamientos y funciones cognitivas según las áreas objetivo. Por tanto, la planificación del tratamiento con radioterapia podría adaptarse de acuerdo con la sensibilidad de las regiones cerebrales objetivo. Con todo esto se realiza el hincapié de la necesidad de seguir explorando estrategias terapéuticas para bloquear los eventos tempranos que aparecen después de la radiación para prevenir el desarrollo de disfunción cognitiva a largo plazo (Constanzo et al., 2020).

Es importante destacar que los déficits cognitivos leves a moderados ocurren en ausencia de necrosis y afectan a un número significativo de pacientes que reciben un tratamiento de radioterapia extracraneal. Se ha estimado que la incidencia general de disfunción cognitiva

relacionada con radioterapia intracraneal en pacientes que sobreviven más de seis meses es hasta 25% a 30% (Constanzo et al., 2020; Pearlstein et al., 2006).

Dentro de las regiones del cerebro, el hipocampo es crucial para la memoria declarativa en humanos, y codifica la memoria episódica y espacial en los animales. El lóbulo temporal medial, donde se encuentra el hipocampo, está relacionado con la creación de nuevos recuerdos episódicos. La corteza prefrontal parece tener una gran importancia a la hora de codificar espacial y temporalmente los recuerdos. Es decir, ayuda a recordar dónde y cuándo se vivió una experiencia, ayudando a organizar mejor los recuerdos. Se ha publicado que la neurogénesis tiene la capacidad de aumentar o disminuir la memoria que depende de la región cerebral del hipocampo. En un adulto, la neurogénesis es regulada por múltiples factores, incluida la actividad neuronal, la edad y el estrés (Alam et al., 2018). Sin embargo, el análisis de la evidencia documentada sugiere que la explicación basada únicamente en el daño a la neurogénesis hipocámpal es una sobre-simplificación del fenómeno (Yamada, 2016). Modelos murinos con animales considerados adultos no han presentado reducción de la capacidad de neurogénesis, pero sí un aumento en los marcadores de inflamación, por lo que éstos pueden jugar un papel crucial en el deterioro cognitivo (Balentova & Adamkov, 2015). Las múltiples rutas de daño debido a la irradiación craneal se encuentran en la siguiente Figura II-6.



NSC: Neural Stem Cells, Células madre neuronales
SGZ: Subgranular zone.

Figura II-6. Esquema propuesto de las distintas rutas para la pérdida de funciones cognitivas después de una irradiación holocraneal, así como unos puntos importantes de intervención propuesta como prevención de este efecto. Esquema tomado y modificado de (Tomé et al., 2016).

Los hallazgos confirman que la irradiación conduce a un deterioro cognitivo que depende del hipocampo y algunos que no dependiente del hipocampo y que está asociado con otras múltiples regiones del cerebro. Aunque existen numerosos experimentos que documentan los déficits cognitivos después del tratamiento con radiación en modelos de roedores, también se ha documentado la cognición normal e incluso mejorada después de la exposición a la radiación. Los factores que influyen en la detección de los déficits cognitivos incluyen el dominio conductual específico evaluado, la sensibilidad del ensayo, la edad a la que se inicia la radiación, el tiempo después de la irradiación en el que se evalúa la cognición, el género del sujeto, la región irradiada (es decir, todo el cuerpo, todo el cerebro o regiones específicas del cerebro), la dosis total de radiación administrada y si la radiación se administra como una dosis única o en

múltiples fracciones (Tomé et al., 2016; Warrington et al., 2013). Estos trabajos resaltan la importancia de seguir trabajando con modelos que describan el efecto de la radiación en respuestas como la memoria espacial.

II.3.3. Neuroinflamación por radiación

Como se mencionó a inicios del apartado II.3, existe una perturbación del microambiente en el parénquima cerebral debido a la interacción de la radiación ionizante con el tejido u órgano. Aunque las habilidades de memoria radican en múltiples regiones y dependen de muchos factores, la neurogénesis, la neuroinflamación y los cambios sinápticos han sido identificados como componentes principales de la disminución de las capacidades cognitivas tras la irradiación en el sistema nervioso central. Adicionalmente a la generación de especies reactivas de oxígeno, existen múltiples mecanismos de señalización inflamatorias que son cruciales para la sobrevivencia de la célula tras la irradiación. Las citocinas inflamatorias y los factores de crecimiento que producen las células tras ser irradiadas crean una cascada de señales que producen distintas enzimas como el caso de iNOS (siglas para *inducible nitric oxide synthetize*) que continúan produciendo especies reactivas de oxígeno ROS y óxidos de nitrógeno NO, amplificando el daño al ADN y favoreciendo la muerte celular (Montay-Gruel et al., 2017, 2020; Najafi et al., 2018).

II.4.Efecto de la tasa de dosis en la Radioterapia

Hace algunos años, la radioterapia por intensidad modulada IMRT presentó nuevos beneficios en la conformación de los haces utilizando tecnología como el colimador multihojas MLC (por sus siglas en inglés), los algoritmos de cálculo de tratamientos y la planeación inversa. Sin embargo el tiempo de una fracción desde el inicio del tratamiento hasta que el último campo es administrado se incrementó de una manera proporcional a la complejidad de la técnica

(Moiseenko et al., 2007; Mu et al., 2003). Con esto, el efecto del tiempo en la entrega de la dosis ha cobrado más relevancia y ha sido analizado en múltiples ocasiones. Fowler y colaboradores en el 2004 orientaron sus investigaciones en la pérdida de efecto biológico debido a la entrega prolongada de la dosis en radioterapia (Fowler et al., 2004).

Los efectos biológicos de dicha prolongación se estimaron utilizando diferentes modelos de respuesta biológica, en especial sobre los modelos de reparación incompleta del daño subletal. Konopacka y colaboradores reportaron el efecto de la tasa de dosis. Resaltan que el efecto más importante ocurre en el rango de 1 a 100 cGy por minuto. Para múltiples líneas celulares, no se han encontrado cambios en las curvas de supervivencia celular cuando se analizó el rango entre 600 y 2400 cGy/min (Konopacka et al., 2016). En el caso de las técnicas de IMRT y de acuerdo con la teoría en radiobiología mencionada en la sección II.2, la fracción de supervivencia aumenta conforme el tiempo de entrega de la dosis también aumenta. Este fenómeno se explica mediante la reparación de daño sub-letal SLDR (por sus siglas en inglés) que se da mientras se está entregando la dosis. En el caso de los tratamientos de IMRT, los tiempos de impartición del tratamiento en cada fracción iban entre 15 y 30 minutos para dosis entre 1.8 y 2.5 Gy por fracción. Esto dará una tasa promedio por sesión de 8.33 cGy/min. Para estos rangos temporales, el componente rápido de reparación domina el mecanismo. La tasa de SLDR se puede representar con valores de tiempo medio $T_{\frac{1}{2}}$; con valores más chicos (componente rápida) para una línea celular, ésta presenta mayor reparación de daño subletal SLDR. Este valor cambia para cada línea celular, por lo que cada caso tiene distinto nivel de impacto (Zheng et al., 2005). Para el caso de células del tejido cerebral, el valor de $T_{\frac{1}{2}}$ rápido ronda los 0.25 a 0.6 horas y el $T_{\frac{1}{2}}$ lento está alrededor de 2.16 hrs, mientras que para células tumorales va de 0.13 a 1.34 hrs para el valor corto y largo respectivamente (Andisheh et al., 2013; Landuyt et al., 1997). En la actualidad, el

tiempo requerido para entregar una dosis de 2 Gy con técnicas como el IMRT dinámico y el VMAT se reducen nuevamente, llegando a ser entre 5 y 10 minutos.

Las conclusiones de estos estudios mencionan una reducción significativa en la efectividad biológica en estudios *in vitro* de hasta un 15-19%, resaltando un posible impacto clínico y su importancia de nuevos protocolos de tratamiento considerando estas diferencias (Mu et al., 2003). Entre las conclusiones resaltan que el cambio en la efectividad radica en el tiempo total del tratamiento, pero es dependiente de la tasa de dosis debido al tiempo involucrado en la respuesta celular (Moiseenko et al., 2007).

Por más de cien años de evolución en la radioterapia han surgido avances en el desarrollo de protocolos de fraccionamiento y en la optimización en la entrega de dosis de forma precisa y conformada (Vozenin et al., 2019). Otro ejemplo claro del papel de la tasa de dosis y el avance tecnológico es que recientemente se han presentado resultados impresionantes en los tratamientos donde se imparte la dosis en pulsos cortos a una ultra alta tasa de dosis. Esta modalidad utiliza equipos linac modificados que genera electrones a una tasa de dosis hasta 100 veces más rápida que lo convencional mejor conocida como radioterapia FLASH (RT-FLASH). Estos equipos operan de tal forma que entregan electrones con una energía de 4.5 MeV, administran la dosis (entre 10 y 12 Gy) en un haz único con una duración menor a 500 *ms* (que se traduce en tasas del rango de 20 y hasta más de 100 Gy/s) los resultados experimentales mostraron que la irradiación a ultra altas tasas de dosis ha incrementado el índice terapéutico, es decir la reducción de las complicaciones en el tejido sano sin pérdida en la eficiencia antitumoral (Favaudon et al., 2014).

La RT-FLASH es una técnica que ha ganado un gran interés y atención en la comunidad de Oncología y Radioterapia principalmente por el gran beneficio que se lograría obtener. Este consiste en permitir un escalamiento de tratamientos a esquemas de hipo-fraccionamiento con mayor seguridad. En un nivel radiobiológico, la reducción de toxicidad en el tejido sano debido a la alta tasa de dosis ha sido denominada *efecto FLASH* y había sido descrita desde la década de 1970. Hoy en día este efecto ha sido robustamente validado al ser observado en varios modelos en distintos animales, distintos órganos y por múltiples centros de investigación aún cuando el efecto fue descrito por primera vez alrededor de hace 60 años sin mucha difusión (Durante et al., 2018; Favaudon et al., 2014).

II.4.1.A. Respuesta del tejido sano

Se ha propuesto que la extremadamente alta tasa de dosis empleada en RT-FLASH con respecto a la radioterapia convencional es la principal responsable del *Efecto FLASH*, esto debido a los eventos radio-químicos involucrados. Se ha relacionado la propiedad de modulación de radiosensibilidad debido al oxígeno con una impartición rápida de dosis: se experimenta un consumo completo del oxígeno de forma local en el sitio irradiado sin ningún proceso de reposición en la escala temporal analizada, llamando una hipoxia transitoria radio-inducida. Existen parámetros físicos que son esenciales para lograr el efecto FLASH, así como otros aspectos relacionados como el tamaño de pulso y la frecuencia de repetición, sin embargo, los estudios relacionados concluyen que el factor dominante es la tasa ultra alta de dosis (Vozenin et al., 2019).

Además de la hipoxia transitoria radio-inducida existe una base fisicoquímica del *efecto FLASH*. Se relaciona la producción instantánea de radicales libres y su diferencia de respuesta entre tejido sano y tejido tumoral. La gran cantidad de agentes oxidantes que se producen en un

tratamiento FLASH se propagarían por el tejido y eventualmente se recombinan después de una serie de procesos bioquímicos y biofísicos. El tejido sano tiene una propiedad de bajo potencial pro-oxidante en un estado metabólico estable, por lo que elimina los radicales generados por la radiación recibida de manera más efectiva. El tejido tumoral por otra parte tiene reacciones de oxidación en cadena que provoca que los radicales persistan por más tiempo en el tejido, promoviendo la acumulación de daño y por lo tanto muerte celular (Vozenin et al., 2019).

En el 2017, el grupo de trabajo de Montay-Gruel y colaboradores evaluaron el efecto de la dosis a distintas ultra altas tasas, tras una irradiación holocraneal de 10 Gy (una sola fracción) en un modelo de ratón. Entre los resultados obtenidos, presentan una preservación de la memoria espacial a través de la prueba de reconocimiento de objeto nuevo o NORT (*Novo Object Recognition Test*) dos meses después de la irradiación con FLASH. Los principios detrás del arreglo experimental en el NORT se abordarán en secciones posteriores. Cuando se comparó la media del tiempo de exploración del grupo control contra grupos irradiados con 10 Gy a distintas tasas de dosis, no existe diferencia estadísticamente significativa ($p=0.005$) a tasas arriba de 100 Gy s^{-1} para la media de los tiempos de exploración de cada grupo; es cuando disminuye de este valor que la tasa de dosis no presenta un efecto de preservación en la memoria (Montay-Gruel et al., 2017).

Además de la evaluación de la memoria y el reconocimiento, los grupos (el grupo de animales irradiados a ultra altas tasas de dosis y el grupo control) fueron analizados a través de la cuantificación de la neurogénesis post-irradiación a través del utilizando la incorporación de BrdU (5'-bromo-2-desoxiuridina). Como se mencionó en la sección anterior, la neurogénesis, la neuroinflamación así como los cambios sinápticos han sido identificados como componentes principales de la disminución de las capacidades cognitivas. Entre las discusiones tratadas en el

artículo de Montay-Gruel y colaboradores, se aborda el efecto protector que los tratamientos de RT-FLASH podrán obtenerse en el futuro de la radioterapia, entre ellos la preservación de las capacidades cognitivas (Montay-Gruel et al., 2017).

Recientemente se demostró la preservación cognitiva cuando se administraron dosis únicas de 10 Gy a tasas de dosis superiores a 100 Gy/s . Si bien los datos existentes indican que FLASH-RT no induce deterioro neurocognitivo, aún quedan muchos aspectos por comprender (Montay-Gruel et al., 2019). Adicionalmente, se ha encontrado evidencia convincente de que incluso los animales jóvenes bajo el esquema de RT-FLASH para una impartición de dosis en una única fracción no presentan deficiencias cognitivas inducidas por radiación durante un período de 2 a 4 meses posteriores a la irradiación, en comparación con los protocolos que utilizan tasas de dosis en el rango convencional de 600 cGy/min , ya que este rango de madurez significa una mayor radiosensibilidad que los cerebros en desarrollo pueden presentar en relación a los efectos en animales maduros (Alaghband et al., 2020).

Es de interés mencionar que el *efecto FLASH* en irradiación holocraneal observado con 10 Gy y 12 Gy desaparece a irradiaciones en dosis de 14 Gy, todos irradiados a la misma tasa de dosis ultra-alta. Adicionalmente, estos últimos trabajos mencionados incluyen modificaciones de las condiciones de oxígeno al realizar el tratamiento de RT-FLASH. Con esto se resalta la importancia crítica del agotamiento de las moléculas de oxígeno debido a la rápida entrega de la radiación como mecanismo inicial (Alaghband et al., 2020; Montay-Gruel et al., 2019).

II.4.2. Efectos Radiobiológicos de RT-FFF

Como se describió en la sección II.1.2 de Radioterapia sin Filtro de Aplanado, los haces sin filtro pueden entregar tasas de dosis más altas, menor radiación dispersa y menor dosis fuera de

campo (*out-of-field*). Al remover el filtro de aplanado también se cambia el espectro energético de los fotones de rayos X en el eje central del haz, lo que teóricamente puede causar más daño biológico en comparación con los tratamientos convencionales, ya que efectos como la reparación de daño subletal pueden tener mayor importancia así como la respuesta del sistema inmune relacionado con los daños cognitivos descrito en la sección II.3.2. La información actual acerca de las consecuencias radiobiológicas de este cambio de modalidad de tratamiento no está clara aún (Dubois et al., 2015; Matsuya et al., 2019)

Múltiples estudios se han enfocado en comparar la viabilidad del uso de la técnica sin filtro de aplanado RT-FFF. Se han realizado análisis de la distribución de dosis entre ambas modalidades. En general, estos estudios concluyen que los resultados entre ambas tasas de dosis presentan una concordancia adecuada, lo que justifica el uso clínico de este tipo de tratamientos. Treutwein y colaboradores mencionan que algunos cambios observados entre ambas modalidades, como es la variación en las UM y ligeros cambios en las coberturas de los OARS, no tienen impacto en la calidad del tratamiento entregado (Treutwein et al., 2017). Sin embargo, el que la dosis depositada sea la misma para ambas modalidades no garantiza que la respuesta radiobiológica sea también la misma.

Con todo esto, el debate continúa hacia el efecto biológico y clínico que puede presentar la RT-FFF. Entre las posibles causas de un probable efecto biológico distinto entre la RT convencional y la RT-FFF provienen de una mayor contribución de fotones de baja energía (entre 50 y 300 keV) en esta última modalidad. Una mayor aportación de fotones de baja energía aumenta el valor de Efectividad Biológica Relativa (descrito en la sección II.2). Otra característica que se relaciona es la disminución del tiempo de entrega de la dosis, que reduce la reparación del daño subletal durante la irradiación. Finalmente se debe mencionar que esta

modalidad de tratamiento también disminuye el tiempo total del haz encendido y por ende mayor confort y menor probabilidad de movimiento intrafracción por parte del paciente (Steenken et al., 2015).

Desde la aparición de las técnicas de intensidad modulada IMRT se reconoce que el efecto citotóxico de la RI disminuye conforme aumenta el tiempo de entrega de dosis, por lo que se debe continuar revisando este posible efecto frente a la implementación de la RT-FFF donde el tiempo de entrega disminuye y que por lo tanto se apreciaría un mayor efecto citotóxico (Nakano et al., 2018). Por otro lado, existe también un efecto conocido es el llamado “efecto inverso de la tasa de dosis”. Este efecto, por el contrario a lo que se espera, al disminuir la tasa de dosis (rango de 1 Gy hr^{-1}) se observa una mayor muerte celular (Hall & Brenner, 1991). Esto ocurre debido a que ante el espaciamiento temporal del daño, la célula tiene cambios en su ciclo celular, se retrasa la reparación de daño potencialmente letal a la fase G2 y esto a su vez tiene por consecuencia el aumento de la radiosensibilidad. Por este tipo de cambios en la respuesta, es fundamental considerar los tiempos de reparación del daño (Hall & Brenner, 1991; Hall & Giaccia, 2006).

Con relación a la capacidad de reparación, un modelo aceptado para tejido sano y tejido tumoral consiste en dos tasas de reparación: una tasa de vida media corta y una vida media alta. Con base en estos modelos y la capacidad de reparación de daño subletal durante el tiempo de irradiación provoca que exista un mayor nivel de sobrevida celular (Fowler et al., 2004; Steenken et al., 2015). Se han reportado las curvas de sobrevida celular usando mayores tasas de dosis. Estas comparaciones han mencionado efectos sobre las reparaciones de daño subletal, efectos del ciclo celular y la oxigenación durante los tiempos de irradiación. Hasta ahora parecen no existir

diferencia en la sobrevida a tasas altas de acuerdo con lo reportado por diversos autores, sin embargo, existen algunas controversias (Karan et al., 2013).

Entre estos estudios de sobrevida celular se encuentran los realizados por Lohse y colaboradores. Su arreglo consistió en comparar la tasa de dosis instantánea o dosis por pulso recibida en cultivo célula de glioblastoma T98G. El arreglo irradiado usando RT-FFF presentó menor valor de sobrevida celular. En su trabajo menciona la importancia de la consideración de la tasa de dosis en el modelo LQ (Lohse et al., 2011). Otros trabajos como los presentados por el grupo de Singers y colaboradores también evaluaron la curva de sobrevida celular cambiando la distancia fuente-superficie y por lo tanto una tasa de dosis mayor. En su trabajo presentó que para tres tasas de dosis distintas, las curvas de sobrevivencia celular son idénticas (Singers et al., 2011).

Posteriormente muchos trabajos más han sido presentados con el fin de estudiar efectos radiobiológicos de los haces sin filtro de aplanado RT-FFF. King en su trabajo ha reportado un arreglo para un equipo que opera a 6 MV con y sin filtro de aplanado considerando el efecto de la tasa de dosis nominal y la instantánea en dos líneas celulares de cancerosas humanas reportando que no existe diferencia significativa. Concluye su trabajo resaltando la importancia de más estudios *in vivo* (King et al., 2013). Karan y su grupo también trabajaron en el efecto de los haces sin filtro en tres líneas celulares *in-vitro*. En sus resultados presentaron que no existe diferencia estadísticamente significativa cuando se irradian 5 y 10 Gy usando haces convencionales en comparación con RT-FFF (Karan et al., 2013).

Más recientemente, Steenken y colaboradores estudiaron el impacto de la RT-FFF en las curvas de sobrevida de líneas celulares astrocíticas (Steenken et al., 2015). Sus resultados

obtenidos describen que no existe cambio en el efecto sobre el tumor o el tejido sano al usar RT-FFF en radiocirugía estereotáctica SRS (*stereotactic radiosurgery*), a dosis impartidas en escala de relevancia clínica (Steenken et al., 2015). Trabajos como los de Nakano y colaboradores han buscado pruebas de efectos distintos al usar RT-FFF, donde discuten que para casos de cáncer de pulmón NSCLC (*non-small cell lung cancer*) no existe evidencia de algún cambio en las curvas de supervivencia celular, principalmente por que la escala temporal de entrega de dosis está lejos de los valores de tasa de vida media de las células (Nakano et al., 2018).

La información del efecto radiobiológico de la tasa de dosis en la literatura actual está limitada principalmente a curvas de supervivencia celular y los estudios reportan resultados con los conflictos mencionados entre ellos. Sin embargo, también se han realizado estudios clínicos comparativos: Mancosu reportó resultados de 55 pacientes tratados con SBRT-FFF (Radioterapia estereotáctica corporal con haz sin filtro de aplanado) en hígado. El tiempo promedio del tratamiento fue de $2.3 \text{ min} \pm 0.5 \text{ min}$ para dosis prescritas entre 32 y 75 Gy, Sus resultados indican que los tratamientos fueron seguros y prácticos para lo requerido (Mancosu et al., 2012).

Algunos estudios han resaltado también la posible aportación en el efecto de las curvas y la tasa de dosis de intermediarios como proteínas que se expresan en efectos sinérgicos entre los distintos tipos de tejidos irradiados, sugiriendo más estudios *in-vivo*. Las dudas que surgen con relación a la respuesta radiobiológica en los órganos y tejidos irradiados tras un cambio en la modalidad de tratamiento desde una perspectiva combinada, por lo que los estudios más allá de la fase *in-vitro* son necesarios. Estos tipos de efectos podrán estar relacionados con la muerte celular experimentada y un posible efecto sinérgico del esquema de tratamiento, al incluir una interacción más compleja que introduce a la respuesta inflamatoria como variable. El uso de haces sin filtro de aplanado puede incluir cambios que se experimentan debido a la alta afluencia

que involucra el tiempo de intercomunicación entre las células del tejido irradiado y la muerte de las mismas (Raymond B. King et al., 2017).

La RT-FFF ha sido revisada con relación del control tumoral y las curvas de supervivencia celular, sin embargo, las consecuencias y restricciones del tejido sano circundante también deben ser revisadas a profundidad, ya que en aplicaciones con altos valores de dosis y altas tasas de administración podrían introducir más efectos secundarios en comparación con los haces aplanados (Steenken et al., 2015; Verbakel et al., 2013). Hasta el momento no hay estudios *in-vivo* que evalúen si el incremento en la tasa de dosis de los tratamientos de RT-FFF generan diferencias en el déficit cognitivo observado tras la irradiación holocraneal.

Objetivos

Objetivos del proyecto

Objetivo general

Empleando un modelo de rata, determinar el efecto que tiene en el tejido sano del cerebro el aumento de la tasa de dosis en la memoria espacial después de la irradiación holocraneal empleando un acelerador lineal comercial de 6 MV sin filtro de aplanado.

Objetivos específicos

- Determinar el estado de la memoria espacial mediante la prueba de reconocimiento de nueva localización o NPRT un mes después de una irradiación holocraneal en modelos de rata macho a las tasas de dosis definidas en agua a una profundidad d_{max} en condiciones de referencia
 - 0 cGy min^{-1}
 - 600 cGy min^{-1}
 - 1200 cGy min^{-1}
- Determinar si existen diferencias estadísticas entre los tres grupos

Capítulo III. Materiales y Metodología Experimental

Todos los procedimientos aquí mencionados fueron previamente revisados y aprobados por el Comité de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía *Manuel Velasco Suárez* (Número de protocolo 160/19) en cumplimiento con las normas nacionales correspondientes y las recomendaciones internacionales. Se realizó todo el esfuerzo para minimizar el número de animales empleados y evitar en lo máximo posible cualquier forma de estrés o daño potencial que se les pueda generar.

III.1. Proceso pre-irradiación

Antes de comenzar la experimentación, se realizó la selección de los animales que son candidatos para la experimentación. Fue requisito previo tener en observación a los candidatos al menos una semana con el fin de que cumplan los criterios de inclusión.

III.1.1. Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar. Las ratas no tienen ninguna patología establecida y la evaluación se realiza sobre el tejido cerebral sano. Los candidatos fueron obtenidos del Bioterio del Instituto de Neurología y Neurocirugía *Manuel Velasco Suárez* y se recibieron con un peso de $280\text{ g} \pm 10\text{ g}$. Los criterios de inclusión fueron: estar libres de cualquier condición que pudiera influir en su respuesta (diarrea, estornudos frecuentes, entre otros). Cuando la rata alcanzó el peso de $300\text{ g} \pm 15\text{ g}$ y sin ninguna característica antes mencionada, la rata fue candidato para realizar el proceso de irradiación.

Para la evaluación del efecto de la tasa de dosis se emplearon tres subgrupos. Los grupos son asignados de acuerdo con la Tabla III-1. Se emplearon un total de 23 animales en esta sección.

Tabla III-1. Subgrupo de animales empleados para la determinación del efecto de la tasa de dosis en agua para condiciones de referencia tras recibir la misma distribución de dosis

n	Clave	Tasa de dosis empleada [cGy min ⁻¹]
7	I0	0
4	IA	600
12	IB	1200

III.2. Proceso de Irradiación

III.2.1. Equipo generador de radiación

Se empleó un acelerador comercial *TrueBeam STx 6 MV* (*Varian Medical Systems*, Palo Alto CA, USA) que entrega fotones de rayos X de alta energía (Figura III-1). La máquina pertenece al departamento de Radioneurocirugía del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía y opera normalmente principalmente para uso clínico.

Al operar con propósito, la máquina cumple con múltiples requisitos normativos, entre los cuales se encuentra lo estipulado en la norma oficial mexicana NOM-033-NUCL-2016 referente a la calibración de los aceleradores lineales. El proceso de calibración se refiere a establecer la equivalencia entre el rendimiento del linac (encontrado como *Unidades Monitor* por minuto o $UM \text{ min}^{-1}$) con la dosis absorbida en un punto específico. La máquina está calibrada de acuerdo con el protocolo TRS-398 de la Agencia Internacional de Energía Atómica IAEA (IAEA, 2001). El punto descrito en el TRS-398 es aquel donde la dosis absorbida es máxima d_{max} cuando se mide en agua (d_{max} se determina experimentalmente a través del valor de *porcentaje dosis en profundidad* PDD y es muy cercano a 1.50 cm en máquinas que operan con 6 MV). Tras el proceso de calibración, el resultado es que para cada unidad monitor UM que entrega el linac, la

dosis absorbida en agua equivale a 1.00 ± 0.05 cGy cuando las condiciones descritas en el protocolo se cumplen.



Figura III-1. TrueBeam STx 6MV que está localizado en el INNN.

Los valores de calibración, así como muchos otros factores de corrección y mediciones dosimétricas realizadas en condiciones específicas están cargados en el Sistema de Planeación de Tratamiento TPS Eclipse (*Varian Medical Systems*, Palo Alto CA, USA). A partir de todos estos valores y un modelo de cálculo se realiza la determinación de la dosis en tejido para todo el volumen.

III.2.2. Diseño de plan de tratamiento

Para el proceso de simulación, se utilizó como sistema de fijación un marco de craneal modificado y una máscara termoplástica moldeada al contorno de una rata con peso de 300 g. El sistema de fijación junto con el animal pasó por un proceso de obtención de imágenes a través de un equipo de tomografía computarizada *Somatom Sensation Tomography* (Siemens, Munich, Germany) por una única vez en el experimento, con la premisa de que todas las ratas son

anat6micamente iguales en el mismo rango de peso. El volumen objetivo PTV consiste en todo el cerebro de la rata, excluyendo el hueso del cr6neo y el cerebelo mientras que los vol6menes en riesgo o OARs fueron la laringe, las cocleas y los ojos. El tallo y los nervios 6pticos quedan dentro del PTV. Los 6rganos en riesgo OARs y los vol6menes objetivo PTV fue delimitado por el f6sico m6dico que realiz6 el experimento con ayuda del director de la tesis que tiene amplia experiencia en la anatomia radiol6gica de rata y rat6n.

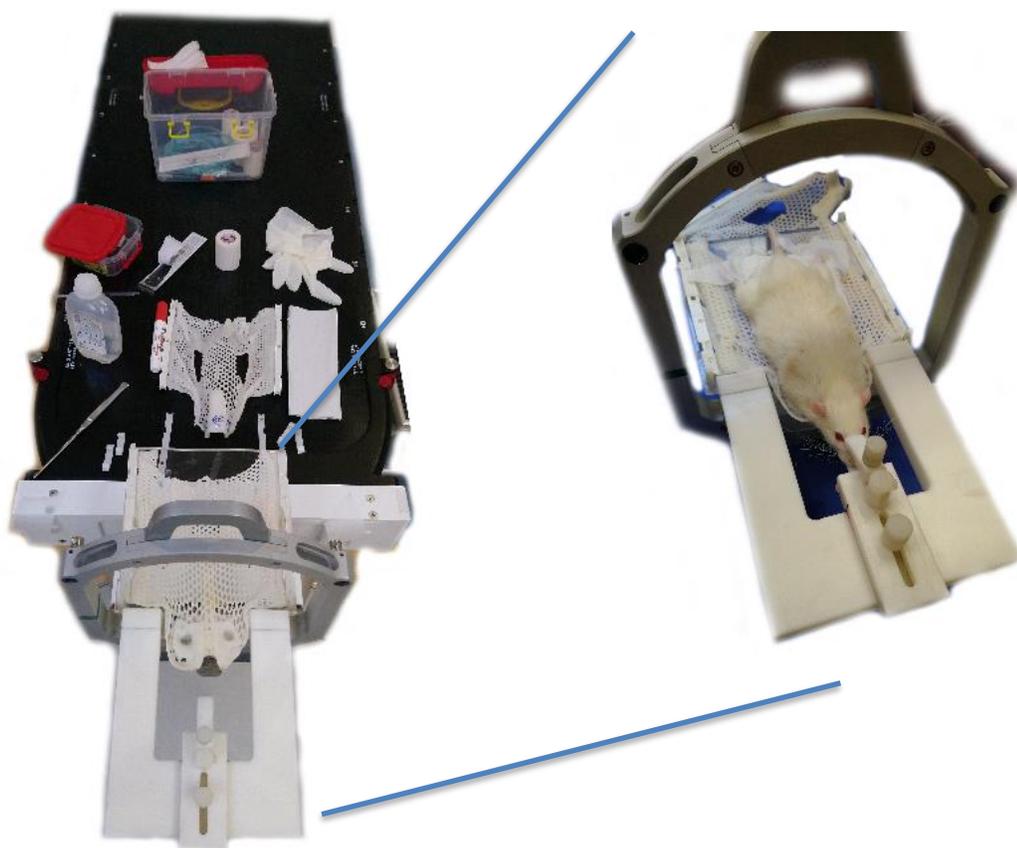


Figura III-2. Sistema de fijaci3n modificado para rata empleado en el trabajo. Modelo empleado por Ballesteros-Zebad6a y colaboradores (Ballesteros-Zebad6a et al., 2010).

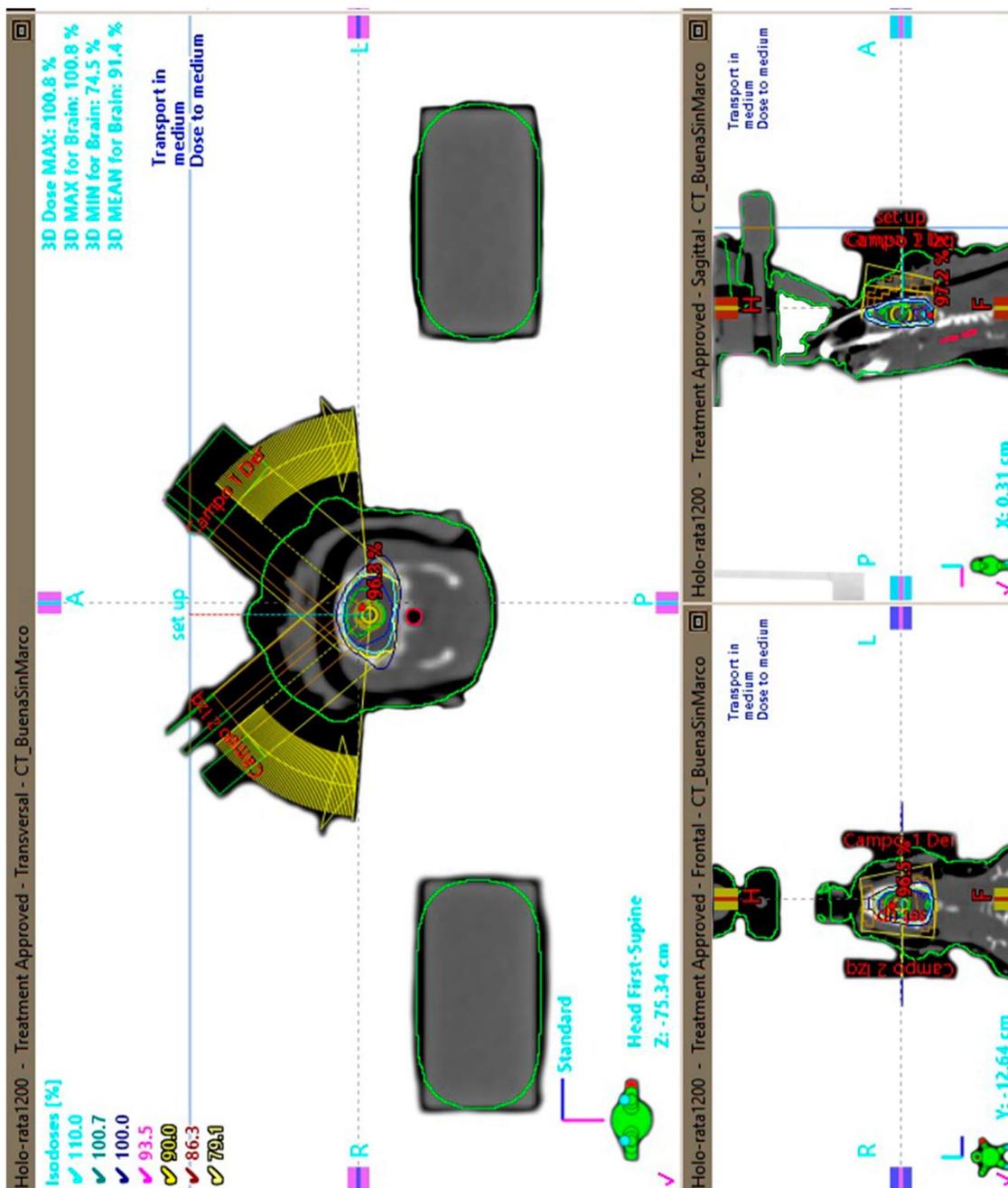


Figura III-3. Plan de irradiación holocraneal utilizando un modelo de rata. El software empleado es el Eclipse®.

Se creó un plan de tratamiento en el software Eclipse 15.0 (*Varian Medical Systems*, Palo Alto CA, USA). La modalidad de tratamiento seleccionada fue VMAT 6 MV-FFF. El protocolo de irradiación es holocraneal con órganos en riesgo o tejido sano circundante incluida la región proximal de orofaringe, los ojos y las cocleas. El esquema de tratamiento proviene del empleado en el área clínica para pacientes bajo tratamiento holocraneal de 30 Gy en 10 fracciones. La dosis única prescrita se obtuvo al utilizar la Ecuación 2 y el esquema mencionado

$$BED_{\alpha/\beta=2 \text{ Gy}} = (10) \times (3.0 \text{ Gy}) \times \left(1 + \frac{3.0 \text{ Gy}}{2 \text{ Gy}}\right) = 75 \text{ Gy}$$

Se utiliza el valor $\alpha/\beta = 2 \text{ Gy}$ que es el reportado para tejido sano en el sistema nervioso central (Halperin et al., 2018). Cuando se busca el valor a dosis única para la irradiación en tejido sano, se despeja de la ecuación de $BED_{\alpha/\beta=2 \text{ Gy}} = 75 \text{ Gy}$.

$$BED_{\alpha/\beta=2 \text{ Gy}} = 75 \text{ Gy} = (1) \times (d) \times \left(1 + \frac{d}{2 \text{ Gy}}\right)$$

Por lo que se obtiene el valor que se redondea a $d \cong 11 \text{ Gy}$. Este es el valor usado para la planeación del tratamiento con cobertura de al menos 95% de todo el volumen del cerebro. El isocentro (SAD= 100 cm) de los haces se colocó en el centro geométrico del PTV, es decir en el centro del cerebro y la dosis a este punto fue de 13.9 Gy (con el fin de lograr el criterio de cobertura mencionado). Se utilizaron dos semi arcos en modalidad RapidArc. El primero que va de 40° a 85° sentido horario y el segundo de 320° a 275° en sentido antihorario (Figura III-3). Previamente, Ballesteros y colaboradores reportaron el procedimiento para la irradiación holocraneal de ratas, la dosis recibida fue calculada usando simulaciones MonteCarlo y verificaciones experimentales en otros trabajos (Ballesteros-Zebadúa et al., 2010).

El plan de tratamiento y el sistema de fijación fueron los mismos para todos los animales que cumplan con el criterio de inclusión (ver Figura III-2). El algoritmo de cálculo empleado para obtener la dosis recibida fue el ACUROSXD _15606 (*Varian Medical System*). La optimización del VMAT se utilizó el algoritmo PO_15606 (*Varian Medical System*). El plan de tratamiento, la fijación y la colocación es el mismo para los grupos de 600 cGy min⁻¹ y de 1200 cGy min⁻¹, la diferencia radica en configurar el rendimiento que puede entregar la máquina: seleccionando para el primer caso la opción de 600 UM min⁻¹ y de 1200 UM min⁻¹ para el segundo.

La rata se preparó para la irradiación. Los animales fueron programados para ser irradiados a la misma hora del día (entre 12:00 y 15:00 hrs). Las ratas fueron irradiadas bajo el efecto de anestesia (Ketamina, 80 mg kg⁻¹) y miorelajante (Xilacina, 10 mg kg⁻¹) administrados aproximadamente 10 minutos antes de la irradiación. Antes de la irradiación, la posición del animal fue verificada mediante el sistema de imagen tomográfica CBCT integrada en el acelerador lineal y fue comparada con la imagen sobre la que se realizó la planeación. La irradiación se realizó cuando la posición de cada rata fue igual a la rata sobre la que se planeó, dentro de las tolerancias aceptadas para el equipo (de 3 mm en cada dirección y 1° en rotación) (Ballesteros-Zebadúa et al., 2010).

Después de la irradiación, el animal se colocó en estado de recuperación hasta el momento que despertó; se registró la hora en que se administró el fármaco, recibió la dosis y finalmente la hora que despertó. En el caso del grupo con tasa de dosis de 0 Gy min⁻¹ el animal fue sedado y colocado en el sistema de fijación, se verificó su posición con el sistema de CBCT sin recibir ningún tratamiento y colocado en estado de recuperación.

III.3. Proceso post irradiación: Evaluación de conducta.

Anteriormente se mencionó el uso de pruebas para la evaluación de las capacidades cognitivas, como la prueba de reconocimiento de objeto nuevo NORT. Los fundamentos de este tipo de evaluaciones residen en que lo “novedoso” es una alteración de lo esperado por un individuo, ya sea comportamiento, objeto o posicionamiento en relación con información previamente conocida. Estos estímulos cambian el comportamiento del individuo o el animal. Los resultados de los paradigmas de reconocimiento están influenciados por lesiones en la región hipocampal y cortical y están involucrados en procesos de novedad, detección, atención y motivación. Cuando hay contactos con un estímulo nuevo, la intensidad de su exploración depende de la cantidad de memoria residual del estímulo familiar, en un intervalo de retraso particular, que necesita actualización y reconsolidación (Antunes & Biala, 2012).

Después de un mes de la irradiación holocraneal, la memoria de las ratas fue evaluada utilizando el paradigma reportado por Limoli y Mumby (Christie et al., 2011; Mumby, 2002). La prueba de conducta *Novel Place Recognition* NPRT o reconocimiento de nueva localización es una evaluación de la memoria espacial, tarea que reside en la zona del hipocampo. Es una prueba que tiene fundamento equivalente a la prueba de NORT descrito en el párrafo anterior.

La prueba consistió en la colocación de la rata dentro de una caja de acrílico (llamada arena) cuyas dimensiones se indican en la Figura III-4, tiene en su interior seis puntos indicados para la colocación de objetos. Es importante resaltar que antes de cada parte de la prueba, se limpió la arena y todas las piezas con hipoclorito de sodio al 10% vol para evitar reconocimiento por olores y errores metodológicos al analizar múltiples ratas en el día. El experimento se realizó a la misma hora del día.

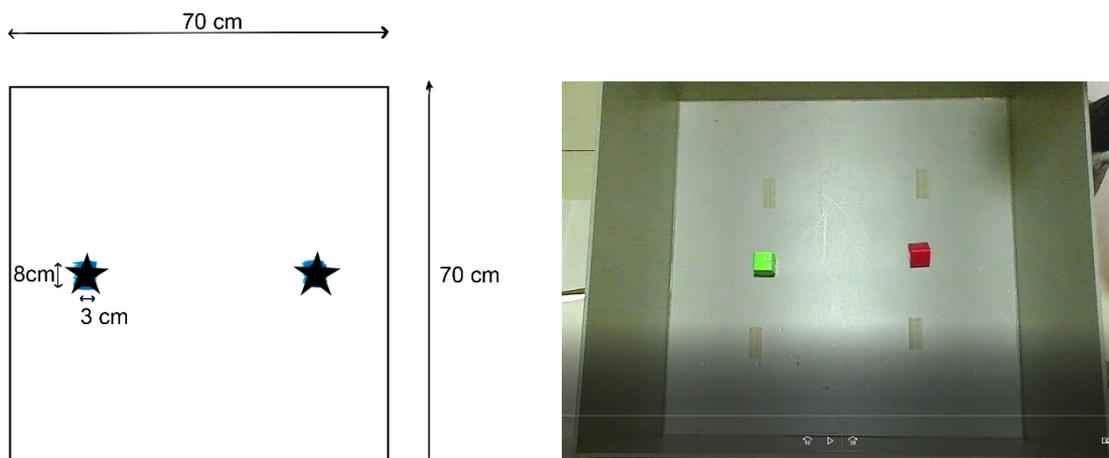


Figura III-4. Descripción de la arena de evaluación para la prueba NPRT (izquierda). Imagen de la arena utilizada en este experimento con los dos objetos utilizados en la parte de habituación (derecha). El material se sugiere acrílico y la arena tiene una altura de 40 cm y está construida de acuerdo con la referencia de (Christie et al., 2011).

La prueba NPRT consistió de 4 partes. Todo el experimento se realizó en condiciones externas controladas como la iluminación, se evitó además la presencia de ruidos fuertes o paso de personas ajenas a la habitación donde se realiza el experimento. Se realizó únicamente por una persona desde la primera hasta la última parte con el fin de que la rata se familiarice con el procedimiento y evite mayor estrés.

La primera parte se denominó “habituación” y se utilizaron dos piezas de plástico rígido colocadas en la parte central de la arena (Figura III-4). Cada rata pasó dentro de la arena entre 15 y 20 minutos. Esta primera parte ocurrió durante tres días consecutivos para cada rata. La segunda y tercera parte ocurrió el cuarto día. Esta segunda parte consistió en la colocación de dos objetos distintos en una nueva localización respecto a los objetos usados anteriormente. La rata exploró por 5 minutos de forma libre y se realizó evidencia en video de todo el proceso. Esta parte se denominó “familiarización”. Después de los 5 minutos se sacó la rata, se limpió de forma exhaustiva por cinco minutos, ya que es el tiempo que debe pasar entre la parte dos y tres, y se realizó la tercera parte.

En la tercera parte, se utilizaron los mismos dos objetos anteriores. Sin embargo, uno de estos dos objetos permaneció en la misma posición “fijo” mientras que el otro se coloca en una posición “nueva”. La rata se dejó explorar de forma libre por 5 minutos y grabado en video todo momento. La cuarta parte ocurrió 24 horas después de la parte de familiarización. Esta cuarta prueba fue similar; el objeto “nuevo” se colocó en una posición diferente a las utilizadas anteriormente mientras que el “fijo” permaneció en su localización. Las posiciones se representan en las siguientes figuras (Figura III-5).

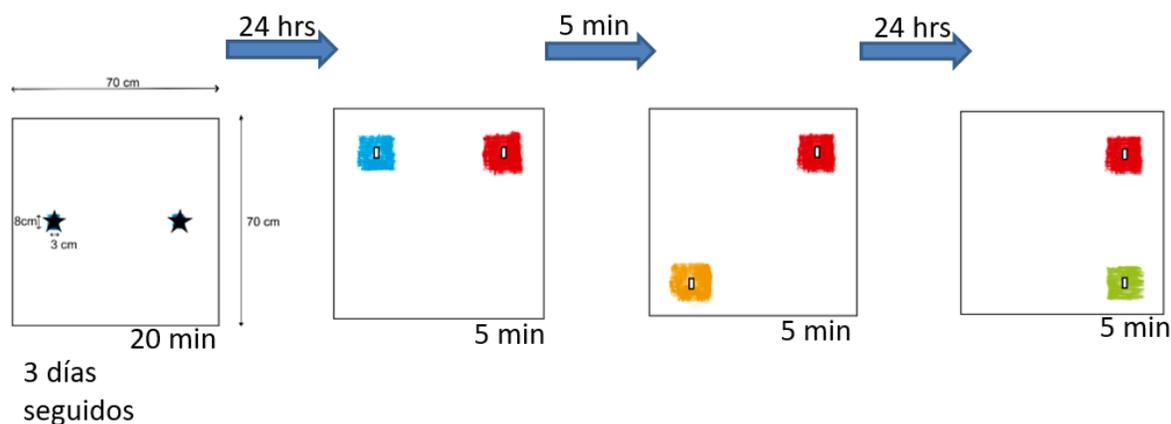


Figura III-5. Pasos uno a cuatro (de izquierda a derecha) de la prueba NPR. El objeto fijo se representa por la zona roja, mientras que el objeto nuevo se indica de color azul en la familiarización, naranja en la prueba después de 5 minutos y verde en la prueba después de 24 horas. Todos los procesos ocurrieron en la misma arena, previamente limpiada.



Figura III-6. Pasos uno a cuatro (de izquierda a derecha) de la prueba NPRT a través de fotos. Los espacios y tiempos son los que se indican en la Figura III-5. Todos los procesos ocurrieron en la misma arena, previamente limpiada.

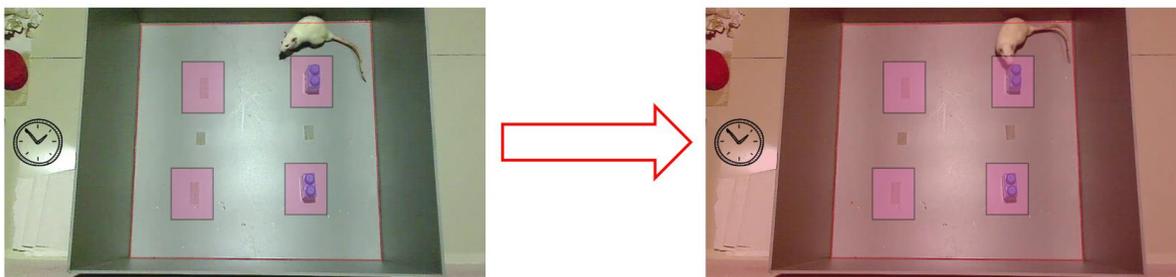


Figura III-7. Ejemplo de la evaluación de los videos para la prueba de memoria espacial. En la imagen de la izquierda se observó la arena sobre la que se realizó la prueba ahora con las regiones de evaluación delimitadas sobre el video y la rata fuera de la misma. En la imagen de la derecha se tiene a la rata dentro del área descrita en el paradigma, por lo que se registra el tiempo que pasa dentro de ésta.

Para analizar los resultados, se delimitó una sección de 4 centímetros de margen en cada dirección alrededor del objeto empleado. Como se mencionó en la parte de antecedentes, las pruebas utilizadas evalúan el daño en la memoria a través de paradigmas ya establecidos (Christie et al., 2011; Montay-Gruel et al., 2017). El valor que se utiliza para evaluar el comportamiento del animal dentro de la arena se expresa en las siguientes Ecuación 3 y Ecuación 4. Estos valores se conocen como Razón de Reconocimiento RR [%] o “*Recognition Ratio*” como también se encuentra en la literatura. El siguiente valor se conoce como Índice de discriminación ID [%] o “*Discrimination Index*”.

$$RR [\%] = \frac{t_{novedoso}}{t_{total}} \times 100$$

Ecuación 3.

$$ID [\%] = \frac{t_{novedoso} - t_{fijo}}{t_{total}} \times 100$$

Ecuación 4.

En donde el valor $t_{novedoso}$ se refiere al tiempo empleado en las pruebas donde la rata está dentro de la región delimitada y explorando el objeto referido como “nuevo” de acuerdo con el

paso en el que se analice. El valor t_{fijo} es el tiempo empleado en explorar el objeto fijo. La suma de ambos valores de tiempo es el t_{total} .

Durante todas las partes de la prueba NPRT la arena fue grabada en video. A través de los archivos de video y un software genérico para su reproducción, el tiempo de exploración fue registrado utilizando la diferencia en la duración que indica el inicio y final de la exploración de acuerdo con lo indicado previamente. La incertidumbre de cada tiempo fue de un cuadro del video, que equivale a 1/30 segundos (al ser la calidad en la cual se grabó).

III.4. Análisis estadístico

III.4.1. Prueba de normalidad

Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los resultados obtenidos provinieron de una distribución normal. Cuando el test no rechaza la hipótesis de que provienen de distribución normal, se proceden con los análisis correspondientes a pruebas paramétricas, en caso contrario, se utilizan las pruebas no paramétricas (Hoffman, 2019). El intervalo de confianza utilizado en todos los análisis fue del 95%.

III.4.2. Comparación de medias

Se buscó comparar los datos obtenidos de RR y de ID para las pruebas de familiarización, test después de 5 min y test después de 24 horas. Los valores obtenidos se representan a través de su valor medio o valor promedio \overline{RR} y su respectivo error estándar de la media $\sigma_{\overline{RR}}$.

$$\overline{RR} = \frac{\sum_i^n RR_i}{n} \quad \sigma_{\overline{RR}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Donde i representa el i -ésimo valor RR obtenido, de un total de n valores, y cuya desviación estándar es σ . Este mismo planteamiento se realiza para el valor \overline{ID} y $\sigma_{\overline{ID}}$. Estos valores son

comparados entre los grupos de 0 Gy min^{-1} , de 600 Gy min^{-1} o baja tasa y de 1200 Gy min^{-1} o alta tasa de dosis. Se realizó la prueba no paramétrica para comparaciones múltiples de la prueba de Kruskal-Wallis. Para determinar los casos donde cuentan con diferencias estadísticamente significativas o con cierta tendencia a serlo, se realiza la comparación de medias mediante la prueba de U de Mann-Whitney corregida (Hoffman, 2019).

Las hipótesis hechas para el análisis estadístico son que los grupos estudiados son independientes con variables continuas; la hipótesis nula establece que la distribución de partida de ambos grupos es la misma. De nuevo el intervalo de confianza es de 95%. Se considera tendencia a ser estadísticamente distintos cuando el valor p se encuentra $0.05 \leq p \leq 0.08$.

Capítulo IV. Resultados.

Cuatro semanas después de la irradiación se realizaron las pruebas de reconocimiento de nueva localización. El animal exploró por 5 minutos dentro de el arena (Figura III-4) y fue registrado en video. Los analisis se realizaron sobre los primeros 90 segundos de acuerdo con el protocolo de Christie y colaboradores (Christie et al., 2011). Para la prueba de NPRT, los resultados se reportaron a través de la razón entre el tiempo de exploración de las siguientes formas:

$$RR [\%] = \frac{t_{novedoso}}{t_{total}} \times 100$$

$$ID [\%] = \frac{t_{novedoso} - t_{fijo}}{t_{total}} \times 100$$

de acuerdo con las ecuaciones descritas en la sección anterior. Los resultados de **RR** e **ID** obtenidos en la prueba de memoria se presentan en la siguientes tablas expresados en porcentajes. Los datos fueron agrupados por la tasa de dosis recibida: **0 cGy min⁻¹** (Tabla IV-1), **600 cGy min⁻¹** o baja tasa de dosis (Tabla IV-2) y **1200 cGy min⁻¹** o alta tasa de dosis (Tabla IV-3).

Tabla IV-1- Valores de Razón de Reconocimiento RR e índice de Discriminación ID obtenidos en las tres pruebas para el grupo de 0 cGy min⁻¹ escrito en porcentaje. La incertidumbre presentada es el equivalente de 1/30 segundos para cada valor calculado.

Grupo 0 cGy min ⁻¹					
Familiarización		Prueba en 5 min		Prueba en 24 hrs	
RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]
48.8±0.1%	-2.3±0.1%	58.5±0.1%	17.0±0.3%	100.0±2.0%	100.0±3.9%
43.7±0.4%	-12.5±0.7%	69.4±0.5%	38.8±1.0%	76.5±1.6%	52.9±3.1%
31.3±0.1%	-37.4±0.2%	71.4±0.3%	42.9±0.5%	100.0±2.1%	100.0±4.2%
61.5±0.2%	23.1±0.4%	58.9±0.2%	17.9±0.3%	100.0±2.8%	100.0±5.6%
61.3±0.1%	22.7±0.1%	80.0±0.4%	60.0±0.7%	71.4±0.4%	42.9±0.7%
41.3±0.1%	-17.4±0.2%	78.8±0.2%	57.6±0.4%	65.1±0.1%	30.2±0.3%
		64.6±0.4%	29.2±0.8%	51.3±0.6%	2.6±1.2%

Tabla IV-2. Valores de Razón de Reconocimiento RR e índice de Discriminación ID obtenidos en las tres pruebas para el grupo de 600 cGy min^{-1} o baja tasa de dosis escrito en porcentaje. La incertidumbre presentada es el equivalente de 1/30 segundos para cada valor calculado.

Tasa de dosis 600 cGy min^{-1}					
Familiarización		Prueba en 5 min		Prueba en 24 hrs	
RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]
43.7±0.1%	-12.5±0.3%	32.9±0.2%	-34.2±0.4%	19.0±0.4%	-61.9±0.9%
77.2±0.5%	54.4±0.9%	22.5±0.1%	-54.9±0.2%	75.0±1.5%	50.0±2.9%
36.5±0.2%	-27.1±0.4%	100.0±0.5%	100.0±0.9%	41.7±0.9%	-16.7±1.9%
37.0±0.4%	-26.0±0.7%	13.4±0.3%	-73.3±0.7%	37.3±0.3%	-25.3±0.6%

Tabla IV-3. Valores de Razón de Reconocimiento RR e índice de Discriminación ID obtenidos en las tres pruebas para el grupo de $1200 \text{ cGy min}^{-1}$ o de alta tasa de dosis en porcentaje. La incertidumbre presentada es el equivalente de 1/30 segundos para cada valor calculado.

Tasa de dosis $1200 \text{ cGy min}^{-1}$					
Familiarización		Prueba en 5 min		Prueba en 24 hrs	
RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]
85.1±0.3%	70.2±0.6%	39.4±0.2%	-21.2±0.4%	52.0±0.3%	4.0±0.6%
42.9±0.1%	-14.3±0.3%	47.7±0.4%	-4.6±0.7%	54.8±0.8%	9.7±1.5%
55.9±0.1%	11.8±0.2%	58.3±0.5%	16.7±1.0%	59.5±0.6%	18.9±1.3%
64.3±0.9%	28.6±1.8%	59.5±0.2%	18.9±0.4%	45.8±0.2%	-8.3±0.4%
58.0±0.1%	16.1±0.1%	64.1±0.2%	28.2±0.3%	43.3±1.0%	-13.2±2.0%
45.4±0.1%	-9.2±0.2%	39.2±0.4%	-21.6±0.9%	59.6±0.5%	19.0±1.1%
46.7±0.2%	-6.7±0.5%	63.0±0.3%	26.1±0.6%	51.3±0.4%	2.6±0.8%
82.1±0.2%	64.3±0.5%	14.3±1.1%	-71.4±2.2%	43.4±2.0%	-13.1±4.1%
33.6±0.4%	-32.8±0.8%	59.2±0.2%	18.4±0.3%	43.5±0.5%	-13.0±1.0%
41.2±0.1%	-17.6±0.1%	22.2±0.3%	-55.6±0.6%	52.9±0.1%	5.9±0.3%
42.9±0.1%	-14.3±0.1%	55.4±0.2%	10.7±0.4%	43.9±0.6%	-12.2±1.2%
37.5±0.2%	-25.0±0.4%				

Se realizó el cálculo del valor medio de *RR* y de *ID* para las distintas pruebas de los tres grupos de tasa de dosis. Los valores obtenidos en la fase de familiarización, prueba después de 5 minutos y la prueba después de las 24 horas se presentan en la siguiente Tabla IV-4. Las barras de incertidumbre representan el valor del error estándar de la media.

Tabla IV-4. Valor de la media obtenida para los valores RR [%] e ID [%] en las distintas pruebas para los tres grupos a comparar. El valor de incertidumbre presentado es el error estándar de la media. “FAM” representa la prueba de familiarización, mientras que “5 MIN” y “24 HRS” representan las pruebas realizadas a 5 min y 24 horas respectivamente después de la prueba de familiarización.

PRUEBA	Tasa de dosis 0 UM min ⁻¹		Tasa de dosis 600 UM min ⁻¹		Tasa de dosis 1200 UM min ⁻¹	
	RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]	RR [%]	ID [%]
FAM	48.0 ± 4.8	-4.0 ± 9.7	48.6 ± 9.7	-2.8 ± 19.3	53.0 ± 4.8	5.9 ± 9.7
5 MIN	68.8 ± 3.3	37.6 ± 6.6	42.2 ± 19.7	-15.6 ± 39.3	47.5 ± 5.1	-5.0 ± 10.2
24 HRS	80.6 ± 7.4	61.2 ± 14.9	43.3 ± 11.7	-13.5 ± 23.3	57.0 ± 5.7	-6.1 ± 13.5

Posteriormente se realizó la prueba de normalidad de los distintos grupos obtenidos utilizando la prueba de Shapiro–Wilk. Los resultados conseguidos de la prueba se muestran en la siguiente

Tabla IV-5.

Tabla IV-5. Prueba de normalidad para los diferentes grupos evaluados. Los valores obtenidos son la significancia asintótica bilateral o valor P. “FAM” representa la prueba de familiarización, mientras que “5 MIN” y “24 HRS” representan las pruebas realizadas a 5 min y 24 horas respectivamente después de la prueba de familiarización.

Valor P - Test de Normalidad Shapiro-Wilk				
	N	FAM	5 MIN	24 HRS
Tasa de dosis 0 UM min ⁻¹	6	0.544	0.432	0.177
Tasa de dosis 600 UM min ⁻¹	4	0.043	0.117	0.659
Tasa de dosis 1200 UM min ⁻¹	12	0.078	0.061	0.189

De acuerdo con la prueba realizada y el nivel de significancia elegido, un valor de $p \geq 0.05$ indica que los datos provienen de una distribución normal. En la Tabla IV-5 se observó que todos los grupos (excepto familiarización de la tasa de dosis de 600 UM min⁻¹), tienen un valor P

mayor que 0.05. Dos de los grupos de alta tasa de dosis presentaron distribuciones no-normales. Por esta razón se realizaron pruebas no paramétricas.

Se realizó un análisis estadístico de comparación de muestras independientes a través de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis K-W. Los resultados que se obtuvieron se presentan en la Tabla IV-6.

Tabla IV-6. Resultados obtenidos de la prueba de Kruskal-Wallis de un factor para los grupos irradiados de 0 UM min⁻¹, tasa de dosis de 600 UM min⁻¹ y de tasa de dosis de 1200 UM min⁻¹. “FAM” representa la prueba de familiarización, mientras que “5 MIN” y “24 HRS” representan las pruebas realizadas a 5 min y 24 horas respectivamente después de la prueba de familiarización. El valor de significancia o “Sig.” es ajustado mediante la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples y se presenta como “Sig. Ajust.”.

	VALOR P K-W	PRUEBAS POST HOC (BONFERRONI)		
		Comparaciones múltiples	Sig.	Sig. Ajust.
FAM	0.771	0 cGy min ⁻¹ contra 600 cGy min ⁻¹	n.a.	n.a.
		0 cGy min ⁻¹ contra 1200 cGy min ⁻¹		
		600 cGy min ⁻¹ contra 1200 cGy min ⁻¹		
5 MIN	0.028	0 cGy min ⁻¹ contra 600 cGy min ⁻¹	0.030	0.089
		0 cGy min ⁻¹ contra 1200 cGy min ⁻¹	0.017	0.051
		600 cGy min ⁻¹ contra 1200 cGy min ⁻¹	0.719	1.000
24 HRS	0.014	0 cGy min ⁻¹ contra 600 cGy min ⁻¹	0.014	0.041
		0 cGy min ⁻¹ contra 1200 cGy min ⁻¹	0.012	0.035
		600 cGy min ⁻¹ contra 1200 cGy min ⁻¹	0.577	1.000

Los valores promedio obtenidos para RR [%] e ID [%] con sus intervalos de incertidumbre (SE) se encuentran representados en las siguientes gráficas Figura IV-1 y Figura IV-2 respectivamente.

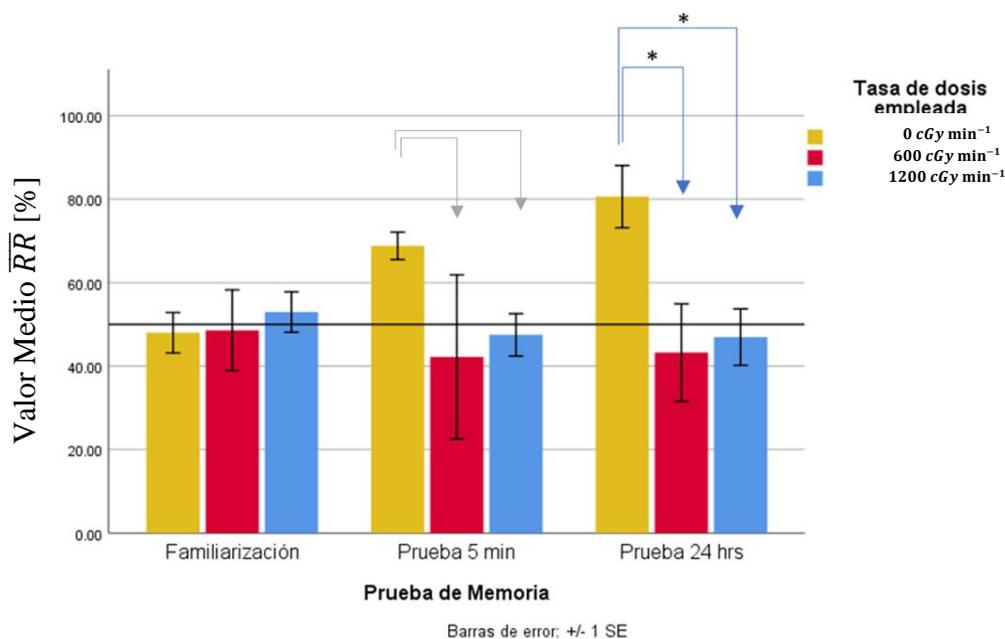


Figura IV-1. Gráfica de barras para los valores RR [%] obtenidos. Se representa la razón de reconocimiento de los tres grupos analizados. La incertidumbre presentada es el error estándar de la media [SE]. La línea en la gráfica representa el valor RR de 50%. Los valores de diferencias estadísticamente significativas se representan con flecha y asterisco, los valores de tendencia a diferencia estadísticamente significativa se representan sólo con flecha.

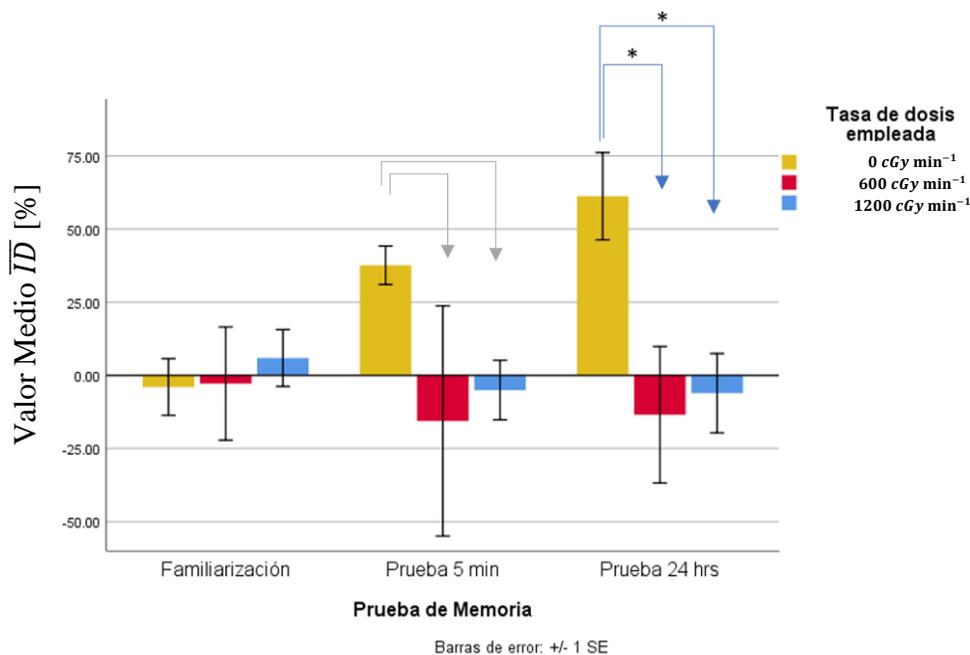


Figura IV-2. Gráfica de barras para los valores ID [%] obtenidos. Se representa el índice de discriminación de los tres grupos analizados para las tres pruebas realizadas. La incertidumbre presentada es el error estándar de la media [SE]. La línea en la gráfica representa el valor ID de 0%. Los valores de diferencias estadísticamente significativas se representan con flecha y asterisco, los valores de tendencia a diferencia estadísticamente significativa se representan sólo con flecha.

Debido al número y los resultados de las pruebas de normalidad obtenidas en la Tabla IV-5, las pruebas estadísticas adecuadas para realizar las comparaciones deben pertenecer a la estadística no paramétrica. Los resultados mencionados se encuentran en la Tabla IV-6.

Capítulo V. Discusiones.

Los datos obtenidos para la familiarización mostraron que para las tres tasas de dosis se rechaza que son significativamente distintas. Si bien este resultado no evalúa la memoria, este resultado es importante ya que indica que inicialmente las ratas exploran por igual dos objetos, lo que permite decir que no existe evidencia de factores externos que alteren el comportamiento de los animales, como una inclinación preferencial hacia una ubicación de un objeto, lo cual valida la prueba realizada.

Los datos obtenidos para la evaluación de la memoria de 5 minutos, los grupos con diferente tasas de dosis no presentan diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se observa una clara tendencia a que ambas tasas de dosis disminuyen la memoria en comparación con el grupo de 0 cGy min^{-1} ($p=0.089$ y 0.051 respectivamente). Esto se considera tendencia de acuerdo a lo estipulado en la sección de metodología (sección III.4.2.) y la Tabla IV-6. En las referencias presentadas en la sección II.3.2. se menciona que el daño neurocognitivo de la radiación es una de los efectos secundarios tras los tratamientos que involucran el cerebro. Con esto podemos discutir que hay una tendencia en la pérdida de la memoria a corto plazo tras la irradiación en ambas tasas, aunque probablemente se requieran más sujetos en el grupo para alcanzar a mostrar la diferencia estadísticamente significativa esperada.

Para la prueba de memoria realizada 24 horas después de la familiarización, los grupos de 600 cGy min^{-1} y de $1200 \text{ cGy min}^{-1}$ mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de 0 cGy min^{-1} . De acuerdo con lo reportado por los autores que han trabajado en las pruebas cognitivas, esto es esperado debido al daño cognitivo radioinducido. En el caso de la comparación entre ambas tasas de dosis, no se encontraron diferencias estadísticamente

significativas entre alta tasa de dosis de 1200 UM min^{-1} contra los de tasa de dosis convencional de 600 UM min^{-1} , donde esta comparación fue la planteada a resolver con este trabajo.

Los resultados obtenidos en este trabajo del efecto que tiene el uso de la RT-FFF con respecto a la RT con tasas de dosis de 600 cGy min^{-1} se pueden comparar con los encontrados en las referencias mencionadas en la sección II.4.2. La aplicación clínica de la radioterapia RT-FFF continúa siendo controversial en algunos puntos, las discusiones en cuanto a su eficacia y seguridad han diferido en diversos estudios preclínicos. Sin embargo, la mayoría de los trabajos concluyen que los efectos observados no son estadísticamente distintos respecto a la tasa convencional, resultados con los que podemos coincidir al evaluar la memoria en nuestro modelo experimental de rata en tejido cerebral sano, al observar que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas tasas de dosis.

Los resultados obtenidos en la presente tesis se comparan también con los reportados por Sarojini y colaboradores (Sarojini et al., 2015). Ellos estudiaron la sobrevida en células sanas y células tumorales tras una irradiación utilizando haces de rayos X de 10 MV con tasas de dosis convencionales (reportado en términos del rendimiento del linac con 400 UM min^{-1}) contra altas tasas de dosis (reportado en términos del rendimiento del linac con 2400 UM min^{-1}). En su trabajo reportan que el aumento en la tasa de dosis favorece la apoptosis de las células de melanoma mediante cambios en la razón de muerte celular tumoral, conservando la razón de sobrevida en los melanocitos circundantes. Laurent y colaboradores (Laurent et al., 2020) también trabajaron en el efecto de la radioterapia RT-FFF, sólo que ellos se enfocaron en la respuesta inmune antitumoral. En las conclusiones de su trabajo no encontraron diferencias significativas en ninguna de las pruebas que realizaron *in vitro* e *in vivo*, al comparar resultados

con una irradiación a tasas de dosis convencionales. Sin embargo, el tipo de células estudiadas fue distinto al tratarse de células tumorales y los resultados coinciden con la ausencia de toxicidad adicional causada por el aumento de tasa de dosis empleada reportada por el presente trabajo. Nuestro trabajo también evalúa el daño debido al aumento de la tasa de dosis, y aunque el modelo es tejido sano *in-vivo*, los resultados son consistentes con lo que se ha observado en los dos trabajos mencionados.

En ambos trabajos se menciona que es importante aclarar y continuar investigando los resultados terapéuticos que se pueden lograr al cambiar la tasa de dosis, principalmente por la posibilidad de mayores beneficios (Laurent et al., 2020; Sarojini et al., 2015).

El daño en las células normales se puede asociar principalmente a su radiosensibilidad, su tasa de proliferación y a la forma en que se organizan como tejido. Células que tienen periodos de proliferación prolongado tienen periodos largos en los que expresan el daño inducido. En el caso de células bien diferenciadas, los efectos radioinducidos requieren relativamente más dosis para expresarse, característica conocida como radioresistencia (Hall & Giaccia, 2006). Otro factor mencionado es la cinética celular ya que el intervalo entre la expresión de los efectos y la irradiación está determinado por la vida de las células maduras y el tiempo que requiere una célula madre en diferenciarse y madurar.

El efecto de la tasa de dosis que se experimenta en el tejido normal también ha sido un tema estudiado desde hace tiempo en distintos ámbitos. Los modelos realizados se basan en la reparación incompleta del daño, que se basan en incluir el proceso de reparación de las células irradiadas. Algunos modelos recientes arrojan que tasas de dosis por debajo de 100 cGy min^{-1} generan un beneficio al tejido sano en términos de la dosis tolerada, en función de su valor α/β .

Para tasas de dosis arriba de 100 cGy min^{-1} , no se observa ningún cambio en la dosis de tolerancia en este tipo de modelos. Los efectos de la redistribución y proliferación celular requieren periodos de días y hasta semanas para tener relevancia (Joiner & van der Kogel, 2009). En la siguiente Figura V-1 se muestra en escala temporal la presencia de los efectos biológicos mencionados, mostrando adicionalmente el efecto FLASH descrito en la sección de antecedentes. Se puede observar que los resultados aquí presentados tienen un comportamiento congruente con lo anteriormente reportado. La participación de la reparación celular ha sido bien descrita en tasas de dosis en el rango convencionales y cobra relevancia con valores menores a 100 cGy min^{-1} . En este estudio se empleó una tasa de dosis que a condiciones de referencia equivale a 600 cGy min^{-1} para la tasa convencional y $1200 \text{ cGy min}^{-1}$ para la tasa de dosis alta, por lo tanto no se da tiempo suficiente de que se experimente una reparación celular en ninguno de los dos casos.

El caso del efecto FLASH observado a ultra altas tasas de dosis se encuentra varios órdenes de magnitud por encima de la tasa de dosis para RT-FFF y de los tiempos de los parámetros celulares que determinan la radiosensibilidad. Cuando se generalizó el uso de la modalidad de IMRT a nivel comercial, el tiempo total de una sesión de RT alcanzó valores hasta el rango de tiempo de 20 y 30 min, para dosis convencionales de 2 Gy por sesión. Este rango de tiempo también se presenta esquemáticamente en la siguiente Figura V-1.

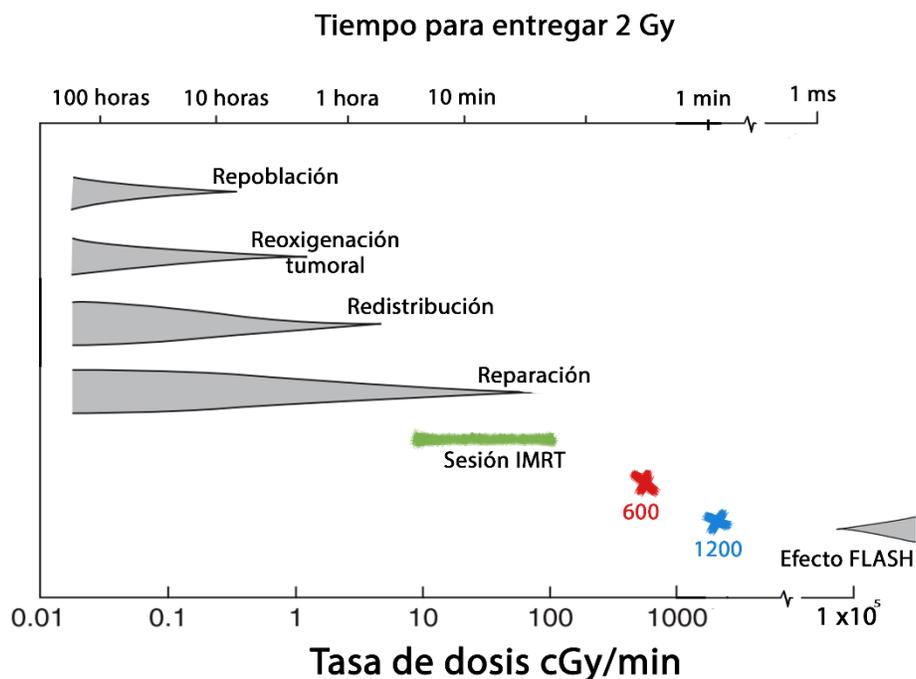


Figura V-1. Esquema general de efectos biológicos presentados a distintas tasas de dosis. Imagen tomada y modificada de (Joiner & van der Kogel, 2009). Los puntos rojo y azul representan los sitios que ocupan en la tabla los experimentos presentados en este trabajo.

Los efectos en el tejido sano se han observado en estudios *in vitro* e *in vivo* con predicciones basadas en los modelos radiobiológicos descritos. Los efectos observados cuando se implementaron las técnicas de IMRT, y por lo tanto se prolongaron los tiempos de irradiación, demostró un efecto importante. Mu y colaboradores observaron que tras un aumento en el tiempo de irradiación de 1 a 20 min, la dosis debe ser corregida hasta 19% por arriba del valor prescrito para lograr el mismo efecto biológico, en términos de la fracción de supervivencia celular de su modelo (Mu et al., 2003). Resaltaron también que este cambio en el efecto biológico depende del tiempo medio de reparación del tejido en cuestión, donde un valor mayor de tiempo medio de reparación de daño sub-lethal significa que el tiempo de irradiación tiene menor efecto, mientras que tejidos con tiempos medios cortos tienen mayor impacto al considerar el tiempo de irradiación. Fowler y colaboradores mencionan que “El tiempo medio de reparación de daño sub-

letal no es un valor único, sino que aumenta con el tiempo interfracción” (Fowler et al., 2004). Sobre el mecanismo que explica las diferencias en las consecuencias de la RI a diferentes tasas, una de las principales teorías resalta que las fases del ciclo celular son la principal causa de la radiosensibilidad del tejido. Entre los modelos cinéticos de respuesta se han presentado propuestas de reparación de daño sub-letal con dos componentes temporales: uno de tiempos cortos en rango de 20 minutos y otro de respuesta tardía que va de 1.5 a 3.5 horas. La escala usada más comunmente es de 20 minutos y 3 horas, con una aportación de 50% cada uno. Se ha mostrado que el valor *BED* disminuye hasta un 20% para la respuesta tardía del tejido sano cuando el efecto de la tasa de dosis prolonga el tiempo de irradiación en el rango de 1 hora. Para el rango de 2 a 10 minutos, la diferencia es del orden del 2%, mucho menor respecto al otro (Ling et al., 2010). Como se puede observar, este efecto es más importante en células de reparación rápida debido a su ciclo celular; mientras que en nuestro trabajo se evalúan las células del encéfalo y éstas tienen componentes de reparación de daño sub-letal mucho mayores que 1 hora. En el caso de tejido sano de la parénquima cerebral, se ha reportado que los valores de reparación de daño sub-letal son 0.25 a 0.6 horas y de 2.16 hrs para el valor corto y largo respectivamente. Estos valores pueden ayudar a justificar que el aumento en el tiempo de irradiación del orden descrito en este experimento no produce un efecto observable en este tipo de tejido. Esta información nos lleva a concluir que los resultados obtenidos en el presente trabajo también son congruentes con lo que se espera obtener al comparar ambas tasas de dosis presentadas, utilizando estos modelos de reparación subletal cuando se utilizan dos componentes temporales, aunque los análisis de la cinética del daño no incluyen los fenómenos que puedan aportar en el daño neurocognitivo, como la inflamación y el cambio en el microambiente celular (Andisheh et al., 2013; Landuyt et al., 1997).

Adicionalmente a lo descrito anteriormente, diversos artículos hacen la aclaración al hablar de tasas de dosis. Dos valores de tasa de dosis se reportan en múltiples trabajos: La tasa de dosis promedio y la tasa de dosis instantánea o por pulso. La primera es a nivel macroscópico y es la que reportan los equipos en términos del rendimiento de la máquina (en $UM \text{ min}^{-1}$) y calibrada para obtener la equivalencia en cGy/min para haces convencionales. La tasa de dosis instantánea que entregan los equipos se encuentra en escala de $10^6 \text{ cGy min}^{-1}$ y proviene del funcionamiento propio del linac, ya que la radiación ionizante la entrega en pulsos de muy corta duración y no de forma continua. En el caso de la modalidad RT-FFF la tasa de dosis (ambos valores) tiene un aumento entre 2 y 4 veces el valor convencional. Sin embargo se ha reportado que este aumento no tiene diferencias significativas en términos de radicales generados y recombinados, por lo que no se espera que tenga efecto en la supervivencia celular (Xiao et al., 2015).

En términos generales, el mecanismo relacionado a la aparición de efectos tardíos o tempranos-retrasados tras la irradiación del SNC aún no está descrito de forma completa (Parente et al., 2020). En el presente trabajo se buscó describir el papel de la tasa de dosis en un modelo bien caracterizado de lesión por radiación sobre tejido sano y las ratas fueron sometidas a una serie de tareas conductuales diseñadas para interrogar la función hipocámpal donde reside la memoria espacial. Las pruebas fueron realizadas un mes después de la irradiación holocraneal de acuerdo con los trabajos reportados previamente. Trabajos como los de Ballesteros *et. al.* (Ballesteros-Zebadua et al., 2013) y Parente *et. al.* (Parente et al., 2020) mostraron que los cambios bioquímicos en el cerebro aparecen después del mes tras la irradiación holocraneal. Las pruebas cognitivas exigen una atención cuidadosa a los detalles y la adhesión a ciertas prácticas estándar puede ayudar a minimizar los artefactos que complican la interpretación de los

resultados. Para minimizar el estrés de los animales destinados a las pruebas cognitivas, es importante que estén familiarizados con los experimentadores que realizarán las pruebas de comportamiento antes de la administración de la tarea (Christie et al., 2011). La prueba cognitiva realizada mostró resultados que coinciden con lo que otros autores han obtenido para pruebas cognitivas en roedores, de acuerdo con lo encontrado en las referencias. Las gráficas presentadas en la Figura IV-1 y en la Figura IV-2 para la fase de familiarización son congruentes con lo presentado por todos los trabajos de evaluación de conducta previos aquí mencionados (Christie et al., 2011; Montay-Gruel et al., 2017). Esta congruencia sirve para confirmar que el modelo experimental presentado en este trabajo está dentro de estos criterios de cuidado con los detalles de realización.

Los equipos modernos de radioterapia han implementado técnicas avanzadas con el fin de lograr mayor precisión y conformación en la dosis. Como resultado de esto, la fluencia con un perfil plano no es necesario; al remover el filtro de aplanado surge la radioterapia sin filtro de aplanado RT-FFF (Pawiro et al., 2020). Además, el notorio incremento en técnicas más avanzadas a las convencionalmente encontradas en radioterapia se ve apoyado por el contexto global de la escasez de recursos (Laurent et al., 2020). Es por eso que se menciona que uno de los beneficios encontrados en el uso de la RT-FFF al aumentar la tasas de dosis hasta aproximadamente 4 veces incluye la reducción del tiempo dentro de la sala de tratamiento, además de otras características ya mencionadas (Ronaldson et al., 2020). Entre tantas nuevas modalidades y protocolos de tratamiento que han surgido, la verificación de cada una de ellas se ha vuelto una necesidad crítica (Laurent et al., 2020).. En el caso de la RT-FFF, este trabajo ha aportado un pequeño avance en los reportes de que, al menos, no existe un deterioro cognitivo

mayor del que se espera obtener en tratamientos de radioterapia para el modelo experimental propuesto en este trabajo.

El daño radio-inducido al sistema nervioso central ha sido reportado como un mecanismo multifactorial y muy complejo, que incluye la interacción dinámica entre muchos tipos de células distintas. En la irradiación del encéfalo están envueltas principalmente tres tipos de células: neuronas, células endoteliales vasculares y células de la glia. Las neuronas maduras son células no proliferantes; las células de la glia tienen un ciclo celular lento, con un valor aproximado de 1% de células precursoras. Las células endoteliales tienen también un valor lento de proliferación, pero éste aumenta después de daño radioinducido (Hall & Giaccia, 2006). El micro ambiente local es de las causas más importantes para la correcta función de las células, que se ve orquestado por una variedad de factores, estatus nutricional, la aportación de oxígeno, influencias de hormonas además de todo lo que implica los mecanismos del sistema inmune (Pazzaglia et al., 2020). Otros resultados mencionan los mecanismos adicionales que se relacionan con la disminución de las capacidades cognitivas como la neuroinflamación, la desmielinización y cambios en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Allen et al., 2018; Tofilon & Fike, 2000), que se desconoce con precisión si se ven afectados por la tasa de dosis.

El reporte de estos artículos en conjunto con los resultados aquí presentados marcan una dirección de futuros trabajos que busquen correlacionar el efecto del cambio de la tasa de dosis con marcadores bioquímicos, de inflamación o histológicos como complemento a evaluaciones en la conducta y la memoria. Estos resultados servirán como complemento y profundizarán en los efectos generados sobre modelos *in vivo*. Cabe aclarar que aunque muchas referencias mencionan el proceso de neurogénesis como el mecanismo fundamental de las habilidades

cognitivas, también mucha evidencia ha demostrado que no es el único proceso relevante. Existen trabajos que han resaltado que el SNC incluye muchas estructuras que se relacionan para los procesos cognitivos. Es por eso que la forma correcta de describir el fenómeno es que la radiación provoca una disfunción en las estructuras, microambiente y sus funciones; no sólo la reducción del número de células (Pazzaglia et al., 2020)

El protocolo de irradiación holocraneal WBRT sigue siendo empleado para el tratamiento de múltiples casos de tumores en el cerebro o de metástasis en el mismo, así como método profiláctico en casos específicos de cáncer. El esfuerzo en las técnicas modernas de irradiación a lesiones en cerebro está orientado en la prevención o mitigación de las consecuencias del daño radio-inducido (Báľentová & Adamkov, 2020). La irradiación provoca decremento en capacidades cognitivas en mayor medida para casos con quimioterapia simultanea y aquellos casos con dos sesiones por día. La edad, la dosis prescrita (dentro del rango utilizado con fines terapéuticos), el sexo y otros factores no representan una relación clara con el nivel de afectación cognitiva expresado, de acuerdo con las referencias presentadas en su trabajo (Zeng et al., 2020). Es importante mencionar que la práctica actual para disminuir el daño cognitivo incluye nuevos protocolos de tratamiento. Entre estos protocolos se encuentra el uso de radioterapia holocraneal con preservación de hipocampo, que sigue actualizando sus resultados conforme se vuelve una práctica popular. Además de protocolos de radioterapia, el uso de ciertas intervenciones farmacológicas y de trasplante de células madre están siendo exploradas con beneficios para el desempeño cognitivo (Pazzaglia et al., 2020). Profundizar en estas últimas modalidades va más allá del alcance de este trabajo.

Es importante resaltar, además de todos estos resultados obtenidos, que existe una brecha muy grande entre los modelos animales en roedores e incluso en primates no humanos a resultados en

humanos. El reto de la traslación de datos incluyen desde diferencias estructurales hasta diferencias funcionales de las estructuras cerebrales. Es por esto que no puede terminar la discusión sin la precaución de tomar los datos de forma generalizada, especialmente en temas como el del presente trabajo.

Capítulo VI. Conclusiones

Por primera vez se ha reportado que, para un modelo de rata macho sobre tejido sano que recibe el protocolo de irradiación holocraneal con dosis prescrita de 11 Gy entregada en una única fracción en un equipo linac 6 MV con haz sin filtro de aplanado RT-FFF, el aumento de la tasa de dosis de 600 cGy min^{-1} a $1200 \text{ cGy min}^{-1}$ no tuvo un cambio estadísticamente significativo en la memoria espacial a corto y largo plazo, evaluada un mes después de la irradiación.

En el modelo planteado, la memoria espacial de los animales tratados con 0 cGy min^{-1} no se observó afectada tras 5 min o 24 horas en comparación con la parte de familiarización. Con respecto a la baja (600 cGy min^{-1}) y alta tasa de dosis ($1200 \text{ cGy min}^{-1}$), la memoria evaluada 5 min y 24 horas después sí se vio afectada con respecto a la parte de la familiarización. Para estas últimas dos tasa de dosis, el efecto fue indistinguible entre ellos con el número de sujetos aquí descritos; por lo que los resultados indican que los efectos de la radiación ionizante sobre la memoria espacial a corto y largo plazo (5 min y 24 hrs) son indistintos al usar la tasa de 600 cGy min^{-1} y la de $1200 \text{ cGy min}^{-1}$. Esta conclusión permite especular que es probable que los pacientes que actualmente han recibido sus tratamientos holocraneal a tasas de dosis de $1200 \text{ cGy min}^{-1}$, si bien no recibirán algún beneficio cognitivo a largo plazo, tampoco se verán afectados cognitivamente al considerar de su memoria espacial.

Con esto, por primera vez se presenta experimentalmente que el duplicar tasa de dosis en equipos sin filtro de aplanado no genera ningún beneficio en la memoria espacial de animales sanos que reciben irradiación holocraneal.

Capítulo VII. Referencias

- Alaghband, Y., Cheeks, S. N., Allen, B. D., Montay-Gruel, P., Doan, N. L., Petit, B., Jorge, P. G., Giedzinski, E., Acharya, M. M., Vozenin, M. C., & Limoli, C. L. (2020). Neuroprotection of radiosensitive juvenile mice by ultra-high dose rate flash irradiation. *Cancers*, *12*(6), 1–21. <https://doi.org/10.3390/cancers12061671>
- Alam, M. J., Kitamura, T., Saitoh, Y., Ohkawa, N., Kondo, T., & Inokuchi, K. (2018). Adult neurogenesis conserves hippocampal memory capacity. *Journal of Neuroscience*, *38*(31), 6854–6863. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2976-17.2018>
- Allen, B. D., Acharya, M. M., Lu, C., Giedzinski, E., Chmielewski, N. N., Quach, D., Hefferan, M., Johe, K. K., & Limoli, C. L. (2018). Remediation of Radiation-Induced Cognitive Dysfunction through Oral Administration of the Neuroprotective Compound NSI-189. *Radiation Research*, *189*(4), 345. <https://doi.org/10.1667/RR14879.1>
- Andisheh, B., Belkić, D., Mavroidis, P., Alahverdi, M., & Lind, B. K. (2013). Improving the therapeutic ratio in stereotactic radiosurgery: Optimizing treatment protocols based on kinetics of repair of sublethal radiation damage. *Technology in Cancer Research and Treatment*, *12*(4), 349–361. <https://doi.org/10.7785/tcrt.2012.500324>
- Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. In *Cognitive Processing* (Vol. 13, Issue 2, pp. 93–110). <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
- Aoki, S., Yamashita, H., Haga, A., Nawa, K., Imae, T., Takahashi, W., Abe, O., & Nakagawa, K. (2018). Flattening filter-free technique in volumetric modulated arc therapy for lung stereotactic body radiotherapy: A clinical comparison with the flattening filter technique. *Oncology Letters*, *15*(3), 3928–3936. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.7809>
- Attix, F. H. (2004). *Introduction To Radiological Physics and Radiation Dosimetry*. John Wiley & Sons.
- Balentova, S., & Adamkov, M. (2015). Molecular, cellular and functional effects of radiation-induced brain injury: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(11), 27796–27815. <https://doi.org/10.3390/ijms161126068>

- Báľentová, S., & Adamkov, M. (2020). Pathological changes in the central nervous system following exposure to ionizing radiation. *Physiological Research*, *69*, 389–404. <https://doi.org/10.33549/PHYSIOLRES.934309>
- Ballesteros-Zebadua, P., Chavarria, A., Angel Celis, M., Paz, C., & Franco-Perez, J. (2013). Radiation-Induced Neuroinflammation and Radiation Somnolence Syndrome. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, *11*(7), 937–949. <https://doi.org/10.2174/1871527311201070937>
- Ballesteros-Zebadúa, P., Lárraga-Gutierrez, J. M., García-Garduño, O. A., Rubio-Osornio, M. C., Custodio-Ramírez, V., Moreno-Jimenez, S., Suarez-Campos, J. E., Paz, C., & Celis, M. A. (2010). Irradiation design for an experimental murine model. *AIP Conference Proceedings*, *1310*, 18–22. <https://doi.org/10.1063/1.3531598>
- Bhushan, M., Yadav, G., Tripathi, D., Kumar, L., Kishore, V., Dewan, A., Kumar, G., Wahi, I. K., & Gairola, M. (2019). Dosimetric Analysis of Unflattened (FFF) and Flattened (FB) Photon Beam Energy for Gastric Cancers Using IMRT and VMAT—a Comparative Study. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, *50*(3), 408–419. <https://doi.org/10.1007/s12029-018-0080-9>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *68*(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Chang, D. S., Lasley, F. D., Das, I. J., Mendonca, M. S., & Dynlacht, J. R. (2014). Basic Radiotherapy Physics and Biology. In *Basic Radiotherapy Physics and Biology*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06841-1>
- Christie, L. A., Acharya, M. M., & Limoli, C. L. (2011). Quantifying cognitive decrements caused by cranial radiotherapy. *Journal of Visualized Experiments*, *56*, 1–7. <https://doi.org/10.3791/3108>
- Constanzo, J., Midavaine, É., Fouquet, J., Lepage, M., Descoteaux, M., Kirby, K., Tremblay, L., Masson-Côté, L., Geha, S., Longpré, J.-M., Paquette, B., & Sarret, P. (2020). Brain irradiation leads to persistent neuroinflammation and long-term neurocognitive dysfunction in a region-specific manner. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and*

- Biological Psychiatry*, 102, 109954. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109954>
- Constine, L. S., Ronckers, C. M., Hua, C.-H., Olch, A., Kremer, L. C. M., Jackson, A., & Bentzen, S. M. (2019). Pediatric Normal Tissue Effects in the Clinic (PENTEC): An International Collaboration to Analyse Normal Tissue Radiation Dose–Volume Response Relationships for Paediatric Cancer Patients. *Clinical Oncology*, 31(3), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2019.01.002>
- Cramer, C. K., Cummings, T. L., Andrews, R. N., Strowd, R., Rapp, S. R., Shaw, E. G., Chan, M. D., & Lesser, G. J. (2019). Treatment of Radiation-Induced Cognitive Decline in Adult Brain Tumor Patients. *Current Treatment Options in Oncology*, 20(5), 42. <https://doi.org/10.1007/s11864-019-0641-6>
- Dubois, L., Biemans, R., Reniers, B., Bosmans, G., Trani, D., Podesta, M., Kollaard, R., Rouschop, K. M., Theys, J., Vooijs, M., Pruschy, M., Verhaegen, F., & Lambin, P. (2015). High dose rate and flattening filter free irradiation can be safely implemented in clinical practice. *International Journal of Radiation Biology*, 91(10), 778–785. <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1068457>
- Durante, M., BräUer-Krisch, E., & Hill, M. (2018). Faster and safer? FLASH ultra-high dose rate in radiotherapy. *British Journal of Radiology*, 91(1082), 6–9. <https://doi.org/10.1259/bjr.20170628>
- Emami, B., Lyman, J., Brown, A., Cola, L., Goitein, M., Munzenrider, J. E., Shank, B., Solin, L. J., & Wesson, M. (1991). Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 21(1), 109–122. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(91\)90171-Y](https://doi.org/10.1016/0360-3016(91)90171-Y)
- Favaudon, V., Caplier, L., Monceau, V., Pouzoulet, F., Sayarath, M., Fouillade, C., Poupon, M. F., Brito, I., Hupé, P., Bourhis, J., Hall, J., Fontaine, J. J., & Vozenin, M. C. (2014). Ultrahigh dose-rate FLASH irradiation increases the differential response between normal and tumor tissue in mice. *Science Translational Medicine*, 6(245), 1–10. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008973>
- Fowler, J. F., Welsh, J. S., & Howard, S. P. (2004). Loss of biological effect in prolonged fraction delivery. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 59(1), 242–249.

<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.01.004>

García-Hernández, T., Vicedo-González, A., Sánchez-Nieto, B., Romero-Expósito, M., & Roselló-Ferrando, J. (2020). Peripheral Surface Dose From a Linear Accelerator: Radiochromic Film Experimental Measurements of Flattening Filter Free Versus Flattened Beams. *Radiation Protection Dosimetry*, *188*(3), 285–298. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncz286>

Georg, D., Knöös, T., & McClean, B. (2011). Current status and future perspective of flattening filter free photon beams. *Medical Physics*, *38*(3), 1280–1293. <https://doi.org/10.1118/1.3554643>

Gondi, V., Pugh, S. L., Mehta, M. P., Tome, W., Benzinger, T., Bovi, J. A., Corn, B. W., Fogh, S. E., Robinson, C. G., Wefel, J. S., & Kachnic, L. A. (2019). NRG Oncology CC003: A randomized phase II/III trial of prophylactic cranial irradiation with or without hippocampal avoidance for small cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, *37*(15_suppl). https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.tps8578

Hall, E. J., & Brenner, D. J. (1991). The dose-rate effect revisited: Radiobiological considerations of importance in radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, *21*(6), 1403–1414. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(91\)90314-T](https://doi.org/10.1016/0360-3016(91)90314-T)

Hall, E. J., & Giaccia, A. J. (2006). Radiobiology for the Radiologist. In *Radiation Research* (Vol. 166, Issue 5). <https://doi.org/10.1667/rr0771.1>

Halperin, E. C., Wazer, D. E., Perez, C. A., & Brady, L. W. (2018). *Perez & Brady's principles and practice of radiation oncology*.

Hoffman, J. I. E. (2019). Basic biostatistics for medical and biomedical practitioners. In *Biostatistics for Medical and Biomedical Practitioners*. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-02190-8>

IAEA. (2001). Absorbed Dose Determination in External Beam Radiotherapy An International Code of Practice for Dosimetry Based on Standards of Absorbed Dose to Water. *Technical Report Series No. 398*, 2006(June), 229. <http://www-pub.iaea.org/books/IAEABooks/5954/Absorbed-Dose-Determination-in-External-Beam-Radiotherapy-An-International-Code-of-Practice-for-Dosimetry-Based-on-Standards-of-Absorbed-Dose-to-Water>

- ICRU, I. C. on R. U. and M. (1999). Report 62. Prescribing, Recording and Reporting photon beam therapy. In *The British Journal of Radiology* (Vol. 74, Issue 879).
- ICRU, I. C. on R. U. and M. (2010). Report 83. PRESCRIBING, RECORDING, AND REPORTING PHOTON-BEAM (IMRT). *Journal of the ICRU*, 10(1), 7–16. <https://doi.org/10.1093/jicru/ndq006>
- Joiner, M. C., & van der Kogel, A. (2009). Basic Clinical Radiobiology. In *Basic Clinical Radiobiology*. Hodder Arnold London. <https://doi.org/10.1201/b15450>
- Joiner, M. C., & van der Kogel, A. (2019). Basic Clinical Radiobiology. In *Basic Clinical Radiobiology*. <https://doi.org/10.1201/b15450>
- Kalantzis, G., Qian, J., Han, B., & Luxton, G. (2012). Fidelity of dose delivery at high dose rate of volumetric modulated arc therapy in a truebeam linac with flattening filter free beams. *Journal of Medical Physics*, 37(4), 193–199. <https://doi.org/10.4103/0971-6203.103604>
- Karan, T., Moiseenko, V., Gill, B., Horwood, R., Kyle, A., & Minchinton, A. I. (2013). Radiobiological effects of altering dose rate in filter-free photon beams. *Physics in Medicine and Biology*, 58(4), 1075–1082. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/4/1075>
- Khan, F. M., & Gibbons, J. P. (2014). Khan's The Physics of Radiation Therapy. In *Lippincott Williams & Wilkins*. <https://doi.org/10.1118/1.3319185>
- Khan, F. M., Gibbons, J. P. J., & Sperduton, P. W. (2016). *Khan's Treatment Planning in Radiation Oncology* (4th ed.). Lippincott Williams & Wilkins. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- King, Hyland, W. B., Cole, A. J., Butterworth, K. T., McMahon, S. J., Redmond, K. M., Trainer, C., Prise, K. M., McGarry, C. K., & Hounsell, A. R. (2013). An in vitro study of the radiobiological effects of flattening filter free radiotherapy treatments. *Physics in Medicine and Biology*, 58(5), N83–N94. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/5/N83>
- King, R. B., McMahon, S. J., Hyland, W. B., Jain, S., Butterworth, K. T., Prise, K. M., Hounsell, A. R., & McGarry, C. K. (2017). An overview of current practice in external beam radiation oncology with consideration to potential benefits and challenges for nanotechnology. *Cancer Nanotechnology*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s12645-017-0027-z>
- Koivumäki, T., Heikkilä, J., Väänänen, A., Koskela, K., Sillanmäki, S., & Seppälä, J. (2016).

- Flattening filter free technique in breath-hold treatments of left-sided breast cancer: The effect on beam-on time and dose distributions. *Radiotherapy and Oncology*, *118*(1), 194–198. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2015.11.032>
- Konopacka, M., Rogolński, J., Sochanik, A., & Ślosarek, K. (2016). Can high dose rates used in cancer radiotherapy change therapeutic effectiveness? *Wspolczesna Onkologia*, *20*(6), 449–452. <https://doi.org/10.5114/wo.2016.65603>
- Landuyt, W., Fowler, J., Ruifrok, A., Stüben, G., Van Der Kogel, A., & Van Der Schueren, E. (1997). Kinetics of repair in the spinal cord of the rat. *Radiotherapy and Oncology*, *45*(1), 55–62. [https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(97\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(97)00139-4)
- Laurent, P. A., Kownacka, A., Boidot, R., Richard, C., Limagne, E., Morgand, V., Froidurot, L., Bonin, C., Aubignac, L., Ghiringhelli, F., Créhange, G., & Mirjolet, C. (2020). In-vivo and in-vitro impact of high-dose rate radiotherapy using flattening-filter-free beams on the anti-tumor immune response. *Clinical and Translational Radiation Oncology*, *24*, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2020.07.004>
- Ling, C. C., Gerweck, L. E., Zaider, M., & Yorke, E. (2010). Dose-rate effects in external beam radiotherapy redux. *Radiotherapy and Oncology*, *95*(3), 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2010.03.014>
- Ling, C. C., & Li, X. A. (2005). Over the next decade the success of radiation treatment planning will be judged by the immediate biological response of tumor cells rather than by surrogate measures such as dose maximization and uniformity. *Medical Physics*, *32*(7), 2189–2192. <https://doi.org/10.1118/1.1930908>
- Lohse, I., Lang, S., Hrbacek, J., Scheidegger, S., Bodis, S., MacEdo, N. S., Feng, J., Lütolf, U. M., & Zaugg, K. (2011). Effect of high dose per pulse flattening filter-free beams on cancer cell survival. *Radiotherapy and Oncology*, *101*(1), 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2011.05.072>
- Lumniczky, K., Szatmári, T., & Sáfrány, G. (2017). Ionizing radiation-induced immune and inflammatory reactions in the brain. *Frontiers in Immunology*, *8*(MAY), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00517>
- Mancosu, P., Castiglioni, S., Reggiori, G., Catalano, M., Alongi, F., Pellegrini, C., Arcangeli, S.,

- Tozzi, A., Lobefalo, F., Fogliata, A., Navarra, P., Cozzi, L., & Scorsetti, M. (2012). Stereotactic body radiation therapy for liver tumours using flattening filter free beam: Dosimetric and technical considerations. *Radiation Oncology*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-7-16>
- Matsuya, Y., McMahon, S. J., Ghita, M., Yoshii, Y., Sato, T., Date, H., & Prise, K. M. (2019). Intensity Modulated Radiation Fields Induce Protective Effects and Reduce Importance of Dose-Rate Effects. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45960-z>
- McMahon, S. J. (2019). The linear quadratic model: Usage, interpretation and challenges. *Physics in Medicine and Biology*, 64(1). <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaf26a>
- Mehta, M. P., & Gondi, V. (2012). Radiation Therapy Oncology Group RTOG 0933 a Phase II Trial of Hippocampal Avoidance During Whole Brain Radiotherapy for brain metastases. In *Rtog*. <http://www.rtog.org/ClinicalTrials/ProtocolTable/StudyDetails.aspx?study=0933>
- Moiseenko, V., Duzenli, C., & Durand, R. E. (2007). In vitro study of cell survival following dynamic MLC intensity-modulated radiation therapy dose delivery. *Medical Physics*, 34(4), 1514–1520. <https://doi.org/10.1118/1.2712044>
- Montay-Gruel, P., Acharya, M. M., Gonçalves Jorge, P., Petit, B., Petridis, I. G., Fuchs, P., Leavitt, R., Petersson, K., Gondre, M., Ollivier, J., Moeckli, R., Bochud, F., Bailat, C., Bourhis, J., Germond, J.-F., Limoli, C. L., & Vozenin, M.-C. (2020). Hypo-fractionated FLASH-RT as an effective treatment against glioblastoma that reduces neurocognitive side effects in mice. *Clinical Cancer Research*, clincanres.0894.2020. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-20-0894>
- Montay-Gruel, P., Acharya, M. M., Petersson, K., Alikhani, L., Yakkala, C., Allen, B. D., Ollivier, J., Petit, B., Jorge, P. G., Syage, A. R., Nguyen, T. A., Baddour, A. A. D., Lu, C., Singh, P., Moeckli, R., Bochud, F., Germond, J.-F., Froidevaux, P., Bailat, C., ... Limoli, C. L. (2019). Long-term neurocognitive benefits of FLASH radiotherapy driven by reduced reactive oxygen species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(22), 10943–10951. <https://doi.org/10.1073/pnas.1901777116>
- Montay-Gruel, P., Petersson, K., Jaccard, M., Boivin, G., Germond, J. F., Petit, B., Doenlen, R.,

- Favaudon, V., Bochud, F., Bailat, C., Bourhis, J., & Vozenin, M. C. (2017). Irradiation in a flash: Unique sparing of memory in mice after whole brain irradiation with dose rates above 100 Gy/s. *Radiotherapy and Oncology*, *124*(3), 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2017.05.003>
- Mu, X., Löfroth, P. O., Karlsson, M., & Zackrisson, B. (2003). The effect of fraction time in intensity modulated radiotherapy: Theoretical and experimental evaluation of an optimisation problem. *Radiotherapy and Oncology*, *68*(2), 181–187. [https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(03\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(03)00165-8)
- Mumby, D. G. (2002). Hippocampal Damage and Exploratory Preferences in Rats: Memory for Objects, Places, and Contexts. *Learning & Memory*, *9*(2), 49–57. <https://doi.org/10.1101/lm.41302>
- Najafi, M., Motevaseli, E., Shirazi, A., Geraily, G., Rezaeyan, A., Norouzi, F., Rezapoor, S., & Abdollahi, H. (2018). Mechanisms of inflammatory responses to radiation and normal tissues toxicity: clinical implications. *International Journal of Radiation Biology*, *94*(4), 335–356. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1440092>
- Nakano, H., Minami, K., Yagi, M., Imaizumi, H., Otani, Y., Inoue, S., Takashina, M., Seo, Y., Takahashi, Y., Sumida, I., Ogawa, K., & Koizumi, M. (2018). Radiobiological effects of flattening filter-free photon beams on A549 non-small-cell lung cancer cells. *Journal of Radiation Research*, *59*(4), 442–445. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry041>
- Nguyen, T., Bartscht, T., Schild, S. E., & Rades, D. (2020). Performance status is associated with survival in elderly patients irradiated for cerebral metastases from prostate cancer. *Anticancer Research*, *40*(3), 1665–1668. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14117>
- Parente, A., Maciel, E. S., Rudi, R. A., Langendijk, J. A., de Vries, E. F. J., & Doorduyn, J. (2020). Delayed effects of a single-dose whole-brain radiation therapy on glucose metabolism and myelin density: a longitudinal PET study. In *International Journal of Radiation Biology* (Vol. 0, Issue 0). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1787542>
- Parsai, E. I., Pearson, D., & Kvale, T. (2007). Consequences of removing the flattening filter from linear accelerators in generating high dose rate photon beams for clinical applications: A Monte Carlo study verified by measurement. *Nuclear Instruments and Methods in Physics*

- Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 261(1-2 SPEC. ISS.), 755–759. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.03.020>*
- Pawiro, S. A., Azzi, A., & Soejoko, D. S. (2020). A Monte Carlo study of photon beam characteristics on various linear accelerator filters. *Journal of Biomedical Physics and Engineering, 10(5)*, 613–622. <https://doi.org/10.31661/jbpe.v0i0.1192>
- Pazzaglia, S., Briganti, G., Mancuso, M., & Saran, A. (2020). *Neurocognitive Decline Following Radiotherapy* : 1–13.
- Pearlstein, R. D., Whitten, C., & Haerich, P. (2006). Assessing neurocognitive dysfunction in cranial radiotherapy: Can cognitive event-related potentials help? *Technology in Cancer Research and Treatment, 5(2)*, 109–125. <https://doi.org/10.1177/153303460600500205>
- Rades, D., Dziggel, L., Manig, L., Janssen, S., Khoa, M. T., Duong, V. N., Khiem, V. H., & Schild, S. E. (2018). Predicting survival after whole-brain irradiation for cerebral metastases in patients with cancer of the bladder. *In Vivo, 32(3)*, 633–636. <https://doi.org/10.21873/invivo.11285>
- Rades, D., Evers, J. N., Veninga, T., Stalpers, L. J. A., Lohynska, R., & Schild, S. E. (2011). Shorter-course whole-brain radiotherapy for brain metastases in elderly patients. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 81(4)*, 469–473. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2011.01.058>
- Rades, D., Meyners, T., Veninga, T., Stalpers, L. J. A., & Schild, S. E. (2010). Hypofractionated whole-brain radiotherapy for multiple brain metastases from transitional cell carcinoma of the bladder. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 78(2)*, 404–408. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2009.07.1717>
- Ronaldson, J. P., Bennett, H., Roberts, J., Ronaldson, A. J., & Cousins, A. T. (2020). A dosimetric comparison of flattening filter free and conventional VMAT treatments for some common cancer sites. *Physical and Engineering Sciences in Medicine, 43(2)*, 719–725. <https://doi.org/10.1007/s13246-020-00877-0>
- Sarojini, S., Pecora, A., Milinovikj, N., Barbiere, J., Gupta, S., Hussain, Z. M., Tuna, M., Jiang, J., Adrianzen, L., Jun, J., Catello, L., Sanchez, D., Agarwal, N., Jeong, S., Jin, Y., Remache, Y., Goy, A., Ndlovu, A., Ingenito, A., & Suh, K. S. (2015). A combination of high dose rate (10X

- FFF/2400 MU/min/10 MV X-rays) and total low dose (0.5 Gy) induces a higher rate of apoptosis in melanoma cells in vitro and superior preservation of normal melanocytes. *Melanoma Research*, 25(5), 376–389. <https://doi.org/10.1097/CMR.000000000000174>
- Sharma, S. (2011). Unflattened photon beams from the standard flattening filter free accelerators for radiotherapy: Advantages, limitations and challenges. *Journal of Medical Physics*, 36(3), 123–125. <https://doi.org/10.4103/0971-6203.83464>
- Singers, B., Vestergaard, A., Overgaard, J., & Hjorth, L. (2011). *Dependence of cell survival on instantaneous dose rate of a linear accelerator*. 101, 223–225. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2011.06.018>
- Stathakis, S., Esquivel, C., Gutierrez, A., Buckley, C. R., & Papanikolaou, N. (2009). Treatment planning and delivery of IMRT using 6 and 18 MV photon beams without flattening filter. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(9), 1629–1637. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.03.014>
- Steenken, C., Fleckenstein, J., Kegel, S., Jahnke, L., Simeonova, A., Hartmann, L., Kübler, J., Veldwijk, M. R., Wenz, F., Herskind, C., & Giordano, F. A. (2015). Impact of flattening-filter-free radiation on the clonogenic survival of astrocytic cell lines. *Strahlentherapie Und Onkologie*, 191(7), 590–596. <https://doi.org/10.1007/s00066-015-0823-5>
- Tofilon, P. J., & Fike, J. R. (2000). The Radioresponse of the Central Nervous System: A Dynamic Process. *Radiation Research*, 153(4), 357–370. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2000\)153\[0357:trotcn\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2000)153[0357:trotcn]2.0.co;2)
- Tomé, W. A., Gökhan, Ş., Gulinello, M. E., Brodin, N. P., Heard, J., Mehler, M. F., & Guha, C. (2016). Hippocampal-dependent neurocognitive impairment following cranial irradiation observed in pre-clinical models: current knowledge and possible future directions. *The British Journal of Radiology*, 89(1057), 20150762. <https://doi.org/10.1259/bjr.20150762>
- Treutwein, M., Hipp, M., Koelbl, O., & Dobler, B. (2017). Volumetric-modulated arc therapy and intensity-modulated radiation therapy treatment planning for prostate cancer with flattened beam and flattening filter free linear accelerators. *Journal of Applied Clinical Medical Physics*, 18(5), 307–314. <https://doi.org/10.1002/acm2.12168>
- Treutwein, M., Steger, F., Loeschel, R., Koelbl, O., & Dobler, B. (2020). The influence of

- radiotherapy techniques on the plan quality and on the risk of secondary tumors in patients with pituitary adenoma. *BMC Cancer*, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-6535-y>
- Tsao, M. N., Xu, W., Wong, R. K. S., Lloyd, N., Laperriere, N., Sahgal, A., Rakovitch, E., & Chow, E. (2018). Whole brain radiotherapy for the treatment of newly diagnosed multiple brain metastases. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018(1). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003869.pub4>
- Verbakel, W. F. A. R., Van Den Berg, J., Slotman, B. J., & Sminia, P. (2013). Comparable cell survival between high dose rate flattening filter free and conventional dose rate irradiation. *Acta Oncologica*, 52(3), 652–657. <https://doi.org/10.3109/0284186X.2012.737021>
- Vozenin, M. C., Hendry, J. H., & Limoli, C. L. (2019). Biological Benefits of Ultra-high Dose Rate FLASH Radiotherapy: Sleeping Beauty Awoken. *Clinical Oncology*, 31(7), 407–415. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2019.04.001>
- Warrington, J. P., Ashpole, N., Csiszar, A., Lee, Y. W., Ungvari, Z., & Sonntag, W. E. (2013). Whole brain radiation-induced vascular cognitive impairment: Mechanisms and implications. *Journal of Vascular Research*, 50(6), 445–457. <https://doi.org/10.1159/000354227>
- WHO, W. H. O. (2018). *Cáncer: Nota descriptiva*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Wundergem, J. (2010). Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students. In *IAEA Training Course Series (Issue 42)*.
- Wong, S. S., Case, L. D., Avis, N. E., Cummings, T. L., Cramer, C. K., & Rapp, S. R. (2019). Cognitive functioning following brain irradiation as part of cancer treatment: Characterizing better cognitive performance. *Psycho-Oncology*, 28(11), 2166–2173. <https://doi.org/10.1002/pon.5202>
- Xiao, Y., Kry, S. F., Popple, R., Yorke, E., Papanikolaou, N., Stathakis, S., Xia, P., Huq, S., Bayouth, J., Galvin, J., & Yin, F. F. (2015). Flattening filter-free accelerators: A report from the AAPM Therapy Emerging Technology Assessment Work Group. *Journal of Applied Clinical Medical Physics*, 16(3), 12–29. <https://doi.org/10.1120/jacmp.v16i3.5219>

- Yamada, M. K. (2016). A link between vascular damage and cognitive deficits after whole-brain radiation therapy for cancer: A clue to other types of dementia? *Drug Discoveries and Therapeutics*, *10*(2), 79–81. <https://doi.org/10.5582/ddt.2016.01004>
- Yorke, E. D., Kutcher, G. J., Jackson, A., & Ling, C. C. (1993). Probability of radiation-induced complications in normal tissues with parallel architecture under conditions of uniform whole or partial organ irradiation. *Radiotherapy and Oncology*, *26*(3), 226–237. [https://doi.org/10.1016/0167-8140\(93\)90264-9](https://doi.org/10.1016/0167-8140(93)90264-9)
- Yuzhalin, A., & Kutikhin, A. (2014). Interleukins in Cancer Biology: Their Heterogeneous Role. In *Interleukins in Cancer Biology: Their Heterogeneous Role*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-15174-4>
- Zeng, H., Hendriks, L. E. L., van Geffen, W. H., Witlox, W. J. A., Eekers, D. B. P., & De Ruyscher, D. K. M. (2020). Risk factors for neurocognitive decline in lung cancer patients treated with prophylactic cranial irradiation: A systematic review. *Cancer Treatment Reviews*, *88*(February), 102025. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102025>
- Zheng, X. K., Chen, L. H., Yan, X., & Wang, H. M. (2005). Impact of prolonged fraction dose-delivery time modeling intensity-modulated radiation therapy on hepatocellular carcinoma cell killing. *World Journal of Gastroenterology*, *11*(10), 1452–1456. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i10.1452>