



**ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS LINEAL CUADRÁTICO Y LINEAL
CUADRÁTICO CÚBICO EN CURVAS DE SUPERVIVENCIA CELULAR**

ALEXANDRA PATRICIA VARGAS CELIS.

**UNIVERSIDAD ECCI
FACULTAD DE INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE INGENIERÍA BIOMÉDICA
BOGOTÁ, D.C.
2016**

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE MÉTODO LINEAL CUADRÁTICO Y MÉTODO LINEAL
CUADRÁTICO CÚBICO EN CURVAS DE SUPERVIVENCIA CELULAR**

ALEXANDRA PATRICIA VARGAS CELIS.

31181

Proyecto de Investigación para optar al título de:

Ingeniería Biomédica

ING. INGRID MERCEDES CRUZ BERNAL M.Sc

**UNIVERSIDAD ECCI
FACULTAD DE INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE INGENIERIA BIOMÉDICA
BOGOTÁ, D.C.
2016**

NOTA DE ACEPTACIÓN:

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Bogotá 23 de septiembre de 2016

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a Dios por permitirme seguir este camino, a mi familia por su paciencia y cariño, a mis directores Ing. Ingrid Cruz por su motivación, consejos, conocimiento y paciencia, Ing. Valentín Molina por su asesoría técnica y colaboración académica y muy especialmente al Dr. Víctor Bourel por iniciar mi interés en el mundo de la radioterapia, por su conocimiento, asesoría científico-técnica compromiso y motivación constantes.

TABLA DE CONTENIDO.

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. ANTECEDENTES | 2 |
| 1.1 MODELOS FÍSICO-MATEMÁTICOS EN RADIOBIOLOGÍA. | 2 |
| 1.1.2 PRIMERAS TEORÍAS RELACIÓN ISOEFECTO. | 2 |
| 1.2 MODELOS BASADOS EN CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE CELULAR E ISO-EFECTO. | 5 |
| 1.2.1 Teoría de blancos | 6 |
| 1.2.2 Teoría de Blancos múltiples – Impacto único. | 6 |
| 1.2.3 Modelo Lineal cuadrático. | 7 |
| 1.3 ALTERNATIVAS DE NUEVOS MODELOS..... | 8 |
| 1.3.1 MODELO LINEAL CUADRÁTICO CUBICO | 8 |
| 1.3.2 CURVA DE SUPERVIVENCIA CELULAR (USC)..... | 9 |
| 1.3.3 PROPUESTA ASTRAHAN. (LQ-L)..... | 10 |
| 1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN | 12 |
| 1.4.1 OBJETIVO GENERAL | 12 |
| 1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 12 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 13 |
| 2.1 BIOLOGÍA Y RADIACIÓN | 13 |
| 2.2 CÉLULA. | 14 |
| 2.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA. | 14 |
| 2.2.2 PARTES DE LA CÉLULA. | 15 |
| 2.2.3 CICLO CELULAR. | 17 |
| 2.3 RADIOSENSIBILIDAD. | 19 |
| 2.4 LÍNEAS CELULARES Y SUS CARACTERÍSTICAS. | 22 |
| 2.4.1 CÉLULAS CÁNCER DE MAMA T47D. | 22 |
| 2.4.2 RADIOSENSIBILIDAD T47D. | 23 |
| 2.4.3 CÉLULAS CÁNCER DE CUELLO UTERINO- HELA..... | 25 |
| 2.4.4 ALGUNAS CONSIDERACIONES EN RADIO SENSIBILIDAD EN HELA. | 25 |
| 2.4.5 CÉLULAS CÁNCER DE PIEL (MELANOMA) – FON. | 26 |
| 2.4.6 RADIOSENSIBILIDAD CÉLULAS MELANOMA. | 27 |
| 2.5 RADIOTERAPIA | 28 |
| 2.6 CURVAS DE SUPERVIVENCIA CELULAR. | 29 |
| 2.6.1 CURVAS CON HOMBRO | 29 |
| 2.7 MODELO LINEAL CUADRÁTICO | 30 |
| 2.8 FRACCIONAMIENTO E HIPOFRACCIONAMIENTO. | 32 |

| | |
|---|-----------|
| 2.8.1 IMPORTANCIA CLÍNICA DE ENSAYOS DE HIPOFRACCIONAMIENTO. | 33 |
| 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS | 35 |
| 3.1 MODELO LINEAL CUADRÁTICO | 35 |
| 3.2 DESARROLLO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES..... | 35 |
| 3.3 IMPLEMENTACIÓN NUMÉRICA..... | 37 |
| 3.3.1 IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO LINEAL CUADRÁTICO..... | 37 |
| 3.3.2 IMPLEMENTACIÓN MODELO LINEAL CÚBICO | 39 |
| 3.3.3 COMPARACIÓN DE LOS MODELOS. | 41 |
| 3.4 GRAFICAS DE COMPARACION. | 43 |
| 4. CONCLUSIONES..... | 48 |
| 5. BIBLIOGRAFÍA..... | 49 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1 | Curvas de Strandqvist en el papel de registro. La pendiente de la curva de 0,22 es el mismo para la dosis tumoricida de células escamosas para diversos grados de reacciones de la piel (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)..... | 3 |
| Figura 2 | La curva de supervivencia universal (USC) y la transición entre la dosis se extiende en el cual lineal cuadrático (LQ) el modelo es válido y la gama de dosis en la cual el modelo multiobjetivo es válido. Debajo de la transición median DT, USC la curva es idéntico con la curva de modelo de LQ y encima de DT, USC la curva es idéntico con la parte terminal lineal de curva multiobjetivo modelado (Park C, 2008). 9 | 9 |
| Figura 3 | Demostración de ilustración de principio como α/β las diferencias podrían ser explotadas si el bajo α/β la respuesta expone el comportamiento de LQ-L Y DT \square $2 \alpha/\beta$ Gy (Astrahan, 2008)..... | 11 |
| Figura 4 | La división celular, constituida por la mitosis (división del núcleo) y la citocinesis (división del citoplasma), ocurren después de completarse las tres fases preparatorias que constituyen la interfase (Ciclo, 2016)..... | 18 |
| Figura 5 | Curva de supervivencia modelo lineal cuadrático línea Fon. | 38 |
| Figura 6 | Curva de supervivencia modelo lineal cuadrático línea T47D. | 38 |
| Figura 7 | Curva de supervivencia modelo lineal cuadrático línea HeLa..... | 39 |
| Figura 8 | Curva de supervivencia modelo lineal cubico línea Fon. | 40 |
| Figura 9 | Curva de supervivencia modelo lineal cubico línea T47D..... | 40 |
| Figura 10 | Curva de supervivencia modelo lineal cubico línea HeLa..... | 41 |
| Figura 11 | Comparación de curvas de supervivencia modelo lineal cuadrático y cubico línea Fon..... | 42 |
| Figura 12 | Comparación de curvas de supervivencia modelos lineal cuadrático y cubico línea T47D. | 42 |
| Figura 13 | Comparación de curvas de supervivencia modelos lineal cuadrático y cubico línea HeLa | 43 |
| Figura 14 | Representación de datos Melanoma | 44 |
| Figura 15 | Representación de datos Mama..... | 45 |
| Figura 16 | Representación de datos cuello uterino. | 46 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Tipos de tumores y radiosensibilidad, tomado de Principios de radioterapia (radioterapia) (Gomez Soler, 2007)..... | 22 |
| Tabla 2. Datos línea celular melanoma (Aballay, 2011)..... | 36 |
| Tabla 3. Datos línea celular mama (Meca, 2016) | 36 |
| Tabla 4 Datos línea celular cuellos uterino (Quintero, 2012)..... | 37 |
| Tabla 5 Datos resultantes línea Melanoma..... | 44 |
| Tabla 6 Datos resultantes línea mama. | 45 |
| Tabla 7 Datos resultantes línea cuello uterino.. | 46 |
| Tabla 8 Parámetros de importancia..... | 47 |

RESUMEN

Las curvas de supervivencia celular son parte fundamental y de gran importancia en el desarrollo de la radioterapia, para su construcción y análisis varios investigadores han propuesto diferentes teorías matemáticas que permitan precisión de análisis, así es como el método matemático utilizado durante los últimos veinte años para su ajuste ha sido el modelo lineal cuadrático, a partir de resultados experimentales en este se representan dos elementos esenciales en donde se presume ruptura de cadenas de AND y muerte celular en dos posibilidades, la primera es que el daño celular sea irreparable y el segundo que se produzca un daño reparable por la célula.

Con este modelo se han presentado algunos inconvenientes en pruebas in vitro, cuando se quieren analizar dosis más altas, varios autores de la materia han planteado nuevos ajustes que permitan llegar a estos parámetros, que oscilan más allá de 6Gy, uno de los nuevos modelos que se plantean es el llamado lineal cuadrático cubico planteado por Joiner (Joiner & Kogerl, 2009) en donde se adiciona un término a la ecuación original, en este trabajo se modelan tres curvas de tumores diferentes mama, cuello uterino y melanoma de experimentaciones in vitro de tres trabajos realizados de manera independiente, con el fin de comparar el ajuste lineal cuadrático y el ajuste lineal cuadrático cubico, los modelos fueron implementados en el software **MATLAB**®, después de adecuar y adaptar los parámetros correspondientes a las ecuaciones; luego de su modelamiento se realiza un paralelo de las curvas para determinar el modelo mejor de análisis, identificando que el ajuste cubico presenta una variación importante respecto al cuadrático, sin embargo no en todas es de la misma magnitud ya que puede depender de las características propias de cada línea celular, pero que permite un mejor ajuste a dosis más altas de las registradas en el modelo cuadrático, además de la importancia clínica que tienen estos modelos acercándose a la realidad en in vitro en nuevas teorías en tratamientos hipofraccionados.

Palabras claves: Supervivencia, radio sensibilidad, ajuste, efectividad.

ABSTRACT

The curves of cellular survival are a fundamental part and of great importance in the development of the radiotherapy, for his construction and analysis several investigators have proposed different mathematical theories that allow precision of analysis, this way it is like the mathematical method used during the last twenty years for his adjustment has been the linear quadratic model, from experimental results in this one two essential elements are represented where there is presumed break of DNA chains and cellular death in two possibilities, the first one is that the cellular hurt is irreparable and the second one that produces a repairable hurt to itself for the cell.

With this model they have presented some disadvantages in in vitro tests, when higher doses want to be analyzed, several authors of the matter have raised new adjustments that allow to come to these parameters, which range beyond 6Gy, one of the new models who appear it is the so called quadratic cubic linear raised by Joiner (Joiner & Kogerl, 2009) where a term is added to the original equation, in this work there model themselves three curves of different tumors breast, uterine neck and melanoma of in vitro experimentations of three works realized of an independent way, in order to compare the linear quadratic adjustment and the linear quadratic cubic adjustment, the models were implemented in the software **MATLAB®**, after adapting and to adapt the parameters corresponding to the equations; after his modelling the parallel one of the curves is realized to determine the best model of analysis, identifying that the cubic adjustment presents an important variation with regard to the quadratic one, nevertheless not in all is of the same magnitude since it can depend on the own characteristics of every cellular line, but that allows a better adjustment higher doses of the registered ones in the quadratic model, besides the clinical importance that these models have approaching the reality in in vitro in new theories in treatments hypofractionated.

Keywords: Survival, radiosensitivity, adjustment, effectiveness.

INTRODUCCIÓN

La radioterapia es el tratamiento terapéutico que emplea partículas u ondas de alta energía como los rayos X, o rayos gamma, para destruir o producir daño en las células cancerosas. La radioterapia actúa sobre el tumor destruyendo las células malignas y así impiden que crezcan y se proliferen. (Asociación de oncología radioterapia aragonesa).

Los estudios en radioterapia realizan cada vez más esfuerzos, numerosas pruebas e investigaciones para convertirse en un tratamiento altamente efectivo, en donde sus efectos adversos sean mínimos convirtiéndola así en una de las primeras opciones de tratamiento no quirúrgico de alta complejidad y evitando daños colaterales en demás órganos. Su principal herramienta, es la radiobiología que es la ciencia que estudia los fenómenos que se producen en los seres vivos tras la absorción de energía procedente de las radiaciones ionizantes (Chacón JI, 1998). En las experimentaciones hechas para lograr determinar la relación dosis - efecto se han realizado representaciones visuales denominadas "curvas de supervivencia celular in vitro", se trata de graficas en donde es posible evidenciar la cantidad de colonias de células cultivadas que después de ser sometidas a determinada radiación sobreviven después de haber sido expuestas, permiten la comparación de diferentes efectos que presentan las células al realizar las variaciones de la tasa de dosis de radiación.

A lo largo de la historia autores en sus múltiples investigaciones han desarrollado modelos matemáticos que logren realizar un ajuste y comprensión de dichas curvas, (Astrahan, 2008)(Park C, 2008) el modelo lineal cuadrático LQ ha sido durante muchos años la herramienta matemática de referencia para el análisis de las curvas de supervivencia celular, pero en este análisis a lo largo del tiempo y en las experimentaciones hechas por otros investigadores también se ha evidenciado ciertas limitaciones. El modelo LQ describe la respuesta celular a radiación ionizante a bajas dosis de aproximadamente 5-6Gy, sin embargo a dosis más altas la respuesta de supervivencia de las células se encuentra a menudo a parecerse más a una relación lineal (Iwato, 1999).

En este contexto algunos investigadores en el tema como Joiner & van der Kogel, Clint Park, y Melvin Astrahan (entre otros), han desarrollado nuevos modelos experimentales que permitan un mejor y efectivo análisis de dosis mayores y que contribuyan con el desarrollo de nuevos esquemas de dosis y fraccionamiento, el objetivo principal del presente trabajo es realizar un acercamiento a uno de estos modelos de análisis (modelo lineal cuadrático cubico) comparándolo con el modelo lineal cuadrático y lograr evidenciar los cambios entre los ajustes, explorando así nuevas teorías que contribuyan al perfeccionamiento de tratamientos de hipofraccionamiento que consiste en la aplicación de mayores dosis de radiación en menos sesiones logrando la mejor efectividad que los tratamientos tradicionales.

1. ANTECEDENTES

La radiobiología es la ciencia que se encarga del estudio e interacción entre la radiación y los tejidos biológicos. Los modelos físico-matemáticos que se emplean en radiobiología, que han sido realizados y tienen por propósito probar y medir la efectividad de los distintos regímenes de radiación. Diversos científicos analizaron modelos teniendo como herramienta la experimentación y sobre un fundamento radiológico, para emplearlas en tratamientos de radiación ionizante, las investigaciones relacionaron diversas características de importancia, entre las cuales se encontraron, la dosis por fracción, la dosis total, y el tiempo de tratamiento fundamental para lograr un mejor resultado terapéutico.

Estos se basan en curvas experimentales, llamadas curvas isoeffecto, que determinan la relación entre el efecto biológico y la dosis total administrada. Mucho se ha discutido sobre los modelos que proponen la célula como un objetivo único o como un multi-objetivo que puede interactuar directamente con la radiación ionizante. Estos modelos de flujo en el modelo cuadrático lineal que intenta modelar matemáticamente el comportamiento experimental de las curvas de supervivencia celular (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

Estas llamadas curvas muestran la relación entre la dosis total, dosis por fracción tiempo total de tratamiento, y la influencia de la transferencia lineal de energía de la radiación ionizante (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014).

1.1 Modelos Físico-Matemáticos en Radiobiología.

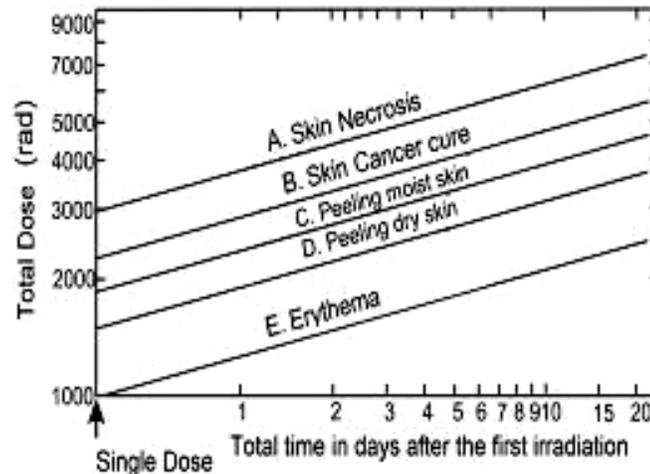
Una variedad de estudios y modelos radiobiológicos se desarrollaron durante las primeras décadas del siglo 20. Estos sirven como base para la investigación sobre el tratamiento del cáncer con radiaciones ionizantes (radioterapia). Se presentan los parámetros que la respuesta celular modelo en interacción con la radiación ionizante. Los modelos empíricos se basan en curvas experimentales, llamadas curvas isoeffecto, que determinan la relación entre el efecto biológico y la dosis total administrada, después se proponen los modelos que expresan la célula como un objetivo único o como una multidiana que pueden interactuar directamente con la radiación ionizante. Estos modelos de flujo en el modelo cuadrático lineal que intenta modelar matemáticamente el comportamiento experimental de las curvas de supervivencia celular. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

1.1.2 Primeras teorías relación isoeffecto.

En 1944 Strandqvist desarrolló un nuevo enfoque científico de los efectos de la radiación ionizante, la introducción de la curva isoeffecto (dosis-isoeffecto) que representa el modo que la dosis total de un tratamiento fraccionado se cambia, dependiendo el tiempo de tratamiento total para producir un isoeffecto equivalente. Este modelo se basa en el hecho

de que "la dosis total en el tiempo total determina los efectos, independiente de racionamiento (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

Figura 1 Curvas de Strandqvist en el papel de registro. La pendiente de la curva de 0,22 es el mismo para la dosis tumoricidad de células escamosas para diversos grados de reacciones de la piel (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014).



Strandqvist lleva a cabo medidas experimentales para el control de los efectos del cáncer en la piel. Se obtiene así una familia de curvas (Figura 2), donde una región óptima se puede encontrar que favorece la curación del tumor con complicaciones mínimas (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

Esto se expresó como:
$$D = kT^{1-p} \quad (1.1)$$

Donde D es la dosis total, T es el tiempo de tratamiento, p es una potencia inferior a 1 (por determinar), y k es la constante de proporcionalidad. El exponente de T , equivalente a la pendiente de las curvas Strandqvist, representa el valor medio de las capacidades de reparación y recuperación de tejidos normales o tumorales. Strandqvist demuestra la relación entre la dosis y el tiempo de tratamiento total requerido para producir cierto efecto biológico. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

Cohen analiza y se compara los datos de respuesta de los tejidos normales, tales como la piel con recurrencias de cáncer de piel, y sugirió, en este caso específico, que la pendiente de la curva de isoeffecto para la piel fue 0,33 en tejidos normales y 0,22 en los tejidos tumorales. Esto dio a la relación entre la dosis de tolerancia y tiempo total de tratamiento (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

En 1967, Ellis propuso una expresión matemática que relaciona la dosis total, el tiempo de duración de tratamiento y el número de fracciones usadas en el régimen de dosis total, la cual denominó dosis nominal estándar (NSD).

Esto fue usado por Ellis sustituir el término $T^{0.22}$ por n^p en la primera expresión encima, donde la n es el número de fracciones. Ellis usa un esquema estándar de 30 fracciones de 2 Gy que administró más de 40 días, le permitió encontrar el valor del exponente del número de fracciones, usando la siguiente relación:

$$402=30p \Rightarrow p=0,24 \quad (1.2)$$

Expresada en:

$$D=kn^{0,24}T^{0,11} \quad (1.3)$$

La constante de k de proporcionalidad es ajustada a un esquema de tratamiento, asignándole el nombre NSD, y cuya interpretación física facilita la comparación de tratamientos con esquemas de fraccionamiento diferentes, indicando el efecto biológico, las dimensiones de este constante incluyen la dosis y el tiempo, y la unidad propuesta es la RAT (la terapia de radiación equivalente) la expresión se convierte en:

$$D= (NSD) n^{0,24}T^{0,11} \quad (1.4)$$

NSD se utiliza para calcular la tolerancia del tejido normal en la región del tumor, y representa la tolerancia de tejido conjuntivo normal, que se da en 1800 rad. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014).

En 1972 Orton y Ellis introdujeron el factor de fraccionamiento de dosis de tiempo (TDF), este modelo relaciona el efecto de dos esquemas terapéuticos que usan el valor de TDF donde los efectos son los mismos, si el valor de TDF es el mismo para ambos esquemas. El valor de TDF obtenido por Orton y Ellis es calculado como una función de tiempo y fraccionamiento. Su expresión matemática es lo siguiente:

$$TDF=n.d^{1.538}.x^{-0.169}.10^{-3} \quad (1.5)$$

Donde la n es el número total de fracciones, la d es la dosis por fracción, y x es el coeficiente de proporcionalidad que relaciona los días de la semana con el número de sesiones por semana. La ventaja de este modelo es el comportamiento lineal del TDF en lo que concierne a la n , así relacionando protocolos de tratamiento diferentes. Además, este modelo es aplicado fácilmente en la práctica clínica y relaciona las variables fundamentales de un tratamiento de radioterapia: dosis, tiempo y número de fracciones. Sin embargo, este modelo tiene algunas desventajas, como su gama corta de aplicabilidad sobre tejidos diferentes. Los modelos ya mencionados han sido substituidos por aquellos deducidos de las ecuaciones de supervivencia de célula, incluyendo el modelo Lineal Cuadrático. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

1.2 Modelos basados en Curvas de Supervivencia de Celular e Iso-efecto.

La interpretación de los efectos de radiación sobre tejidos sanos y tumorales está fundamentada según el efecto causado por las células que componen estos tejidos. Las células de supervivencia son aquellos que realizan sus actividades reproductivas, con sus funciones, después de la irradiación. La muerte de célula ocurre cuando la célula deja de realizar su función en las células diferenciadas, y cesa sus actividades reproductivas en células indiferenciadas. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

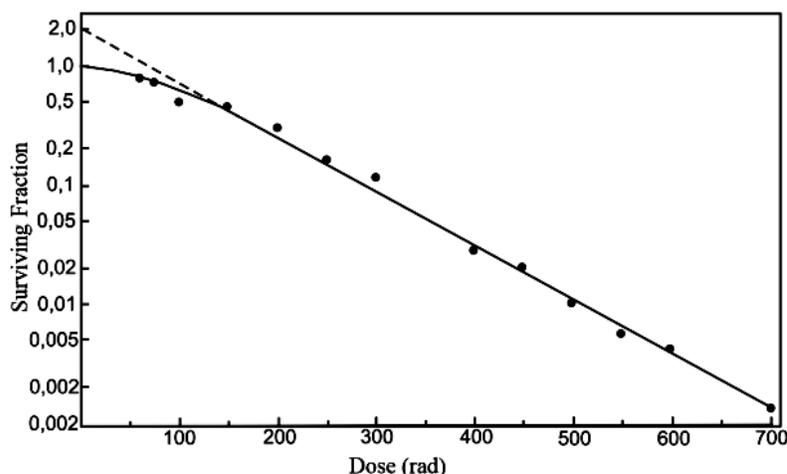
Los métodos empleados en la determinación de las curvas de supervivencia de células expuestas a la radiación se agrupan en dos categorías: in-vitro y ex-vivo estos métodos se basan en la capacidad de algunas células para sobrevivir y reproducirse en un medio de cultivo mientras que en ex-vivo métodos se basan en el recuento de células en ciertos órganos después de ser irradiados. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

Una curva de supervivencia se presenta en forma semi-algorítmico (ver Figura 2), con el valor de la dosis real en el eje x, y el logaritmo natural de la fracción de supervivencia en el eje y. De acuerdo con los datos adquiridos empíricamente, interpolaciones y extrapolaciones se han generado con el fin de obtener curvas de supervivencia celular.

Estos procedimientos matemáticos, junto con sus supuestos teóricos, se originó una serie de modelos de curva sur-supervivencia, tales como:

- Teoría de blancos.
- Modelo de dos componentes.
- Modelo Lineal Cuadrático.

Figura 1 Curva original de la fracción de la dosis de radiación para la supervivencia de las células de mamífero (HeLa) (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)



1.2.1 Teoría de blancos

En este modelo cada célula posee un solo blanco y muere con un solo impacto, matemáticamente, el número de objetivos dN inactivados por una pequeña dosis dD es proporcional al número de objetivos N y a la dosis dD . Por lo tanto:

$$dN \propto Nd \Rightarrow N = -NdD / D_0 \quad (1.6)$$

Cuando D_0 es una constante que corresponde al valor de la dosis que permite el 37% de la supervivencia celular y el signo menos indica la muerte celular. El valor D_0 caracteriza a la sensibilidad intrínseca de una población de células. Esto significa que el menor es la dosis que reduce la población celular original a su 37%, mayor será la sensibilidad a la radiación. En la integración se obtiene:

$$N = N_0 e^{-D/D_0} \quad (1.7)$$

Donde N_0 es el número inicial de células y N es el número de células que sobreviven a una dosis de radiación. Teniendo en cuenta la célula como un único objetivo, la supervivencia de una población de células está representado por la supervivencia S , y se expresa como:

$$S = N/N_0 = e^{-D/D_0} \Rightarrow \ln S = -D/D_0 \quad (1.8)$$

Cuando el valor D_0 puede ser interpretada como la dosis media para una relación de un golpe por cada blanco. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

1.2.2 Teoría de Blancos múltiples – Impacto único.

En este modelo, la célula se considera que tiene múltiples objetivos, y la inactivación de todos ellos es necesaria en otros para lograr la muerte celular. Cada objetivo se inactiva por un solo golpe. De acuerdo con la interpretación anterior, y de acuerdo con la deducción lógica, la ecuación de supervivencia para este modelo es:

$$S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n \Rightarrow \ln S = \ln(1 - (1 - e^{-D/D_0})^n) \quad (1.9)$$

Donde S es la fracción de supervivencia, D la dosis total, D_0 es una constante que corresponde a la dosis promedio de un golpe por objetivo, por lo tanto, el mantenimiento de la interpretación del modelo anterior, y n es el número de objetivos de la célula. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014).

La curva de supervivencia obtenida para este modelo tiene una pendiente inicial igual a cero, lo que hace que sea imposible modelar correctamente el comportamiento de la mayoría de células de mamíferos, ya que, empíricamente, las curvas de supervivencia en general, muestran una pendiente negativa inicial. Sin embargo, a medida que aumenta la dosis, el comportamiento obtenido corresponde a las curvas de supervivencia empíricas. (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

1.2.3 Modelo Lineal cuadrático.

El modelo lineal cuadrático es una formulación matemática que utiliza un polinomio de segundo grado y supone que cada célula está muerta debido a la inactivación de los dos o más objetivos es el más aceptado desde los últimos años. Este modelo presupone que la célula muere como consecuencia de dos posibilidades: 1) que el daño celular sea irreparable y 2) que se produzca un daño reparable por la célula. En función de ello, la curva de supervivencia viene determinada por dos componentes; uno linealmente proporcional a la dosis de radiación, relacionado con el daño irreparable (daño letal), y otro proporcional al cuadrado de la dosis relacionado con el daño reparable (daño subletal) (Preston, 2005)

Según este modelo, la fracción superviviente es igual a:

$$SF = \exp^{-(\alpha D + \beta D^2)}$$

donde αD es el término lineal, proporcional a la dosis, y βD^2 el término cuadrático, proporcional al cuadrado de la dosis; por esto el modelo recibe el nombre de lineal-cuadrático. Cuando el término lineal iguala al cuadrático, es decir, cuando la proporción de daños reparable e irreparable se iguala, el modelo puede expresarse como sigue:

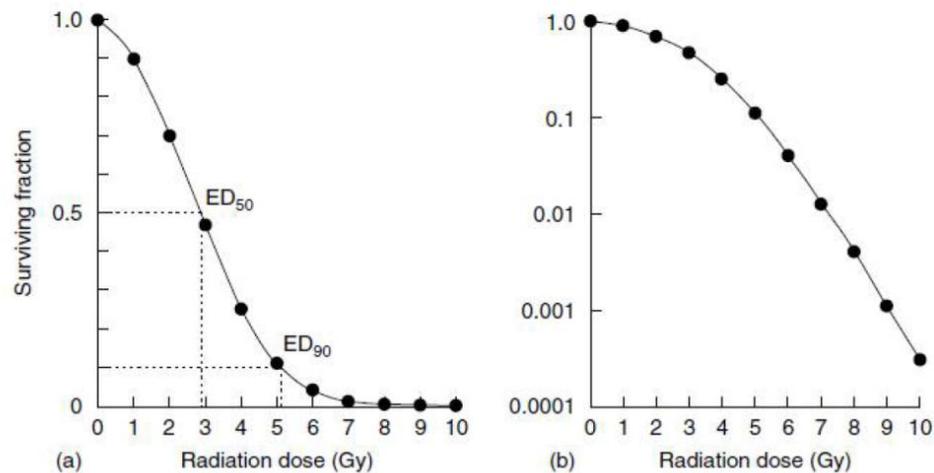
$$\alpha D = \beta D^2 \leftrightarrow \alpha/\beta = D^2/D = D$$

es decir, que el cociente α/β (también llamado cociente de efectividad) es igual al valor de la dosis a la que los daños reparable e irreparable se hacen iguales. Una gráfica muy incurvada tendrá un pequeño α/β , mientras que una gráfica aplanada lo tendrá grande. (Sendra Portero, 2002)

El modelo de supervivencia celular lineal cuadrático presenta las ventajas de una relativa simplicidad matemática y un buen ajuste a los datos observados en el rango de 2 Gy a 8 Gy. El esquema clásico de fraccionamiento viene a ser 2 Gy/fracción una vez al día durante unas 30 fracciones, lo que se conoce como fraccionamiento convencional. El problema del fraccionamiento convencional es la repoblación celular, especialmente en tumores con tiempo de duplicación elevado. En este sentido el hipofraccionamiento acelerado (varias dosis diarias de < 2 Gy) presenta una potencial ventaja biológica, pero a costa de incrementar la toxicidad aguda, lo que obliga a interrumpir el tratamiento y, por tanto perder dicha ventaja) (Asociación de oncología radioterapia, 2015)

El modelo lineal cuadrático LQ es un instrumento útil para intercomparar fraccionamientos convencionales; esto no coincide con lo que es observado experimentalmente en muchos estudios de supervivencia celular clonogenica en la alta dosis relaciones de respuesta de dosis en el que de radiación más estrechamente se acerca sobre una línea directa (Astrahan, 2008)

Figura 2 Representación de una curva de supervivencia in vitro mediante una escala lineal o una escala semilogarítmica. En la curva de la izquierda se ha representado la supervivencia en escala lineal. A la derecha los mismos datos se han representado en una escala semilogarítmica. Se observa que, en la derecha, a dosis altas, el trazo de la supervivencia puede estudiarse con más detalle que en la representación lineal, en la que el trazo de la función se hace asintótico. Además, el grado de radiosensibilidad a bajas dosis se puede observar en el tamaño del hombro de la curva de supervivencia en escala semilogarítmica. (Balart, 2001)



1.3 ALTERNATIVAS DE NUEVOS MODELOS

El modelo de LQ describe la respuesta celular a la radiación de ionización sumamente bien en dosis menos que aproximadamente 5-6Gy y es el modelo preferido para usar en esta gama de dosis. Sin embargo, en dosis más altas la respuesta de supervivencia de células a menudo es encontrada para más estrechamente parecerse a una relación lineal entre $\ln(S)$ y la dosis, como se ha descrito por los modelos basados en la teoría objetivo (Joiner & Kogerl, 2009).

La sobre predicción de la potencia y la toxicidad de radioterapia de ablatoivo de dosis alta como la radioterapia corporal extereotóxica (SBRT) por el lineal cuadrático (LQ) el modelo condujo a la vacilación de muchos clínicos a adoptar esta opción eficaz y bien tolerada terapéutica (Park C, 2008)

1.3.1 Modelo Lineal cuadrático cubico

Un modo simple de ajustar el modelo de LQ para representar la respuesta más lineal en dosis más altas es de añadir un término adicional proporcional al cubo de la dosis, pero en frente en el signo a los términos lineales y cuadráticos. Esto es llamado el lineal cuadrático cúbico, o modelo LQ-C.

Una manera simple de ajustar el modelo LQ en su respuesta lineal en mayores dosis, es agregar un término adicional proporcional al cubo de la dosis, pero de signo opuesto a los términos lineales y cuadráticos (Iwato, 1999)

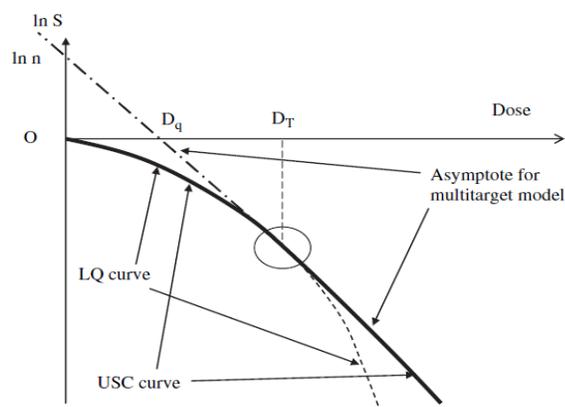
1.3.2 Curva de supervivencia celular (USC)

El objetivo de este estudio era ofrecer un método alternativo de analizar el efecto de SBRT por construyendo una curva de supervivencia universal (USC) que proporciona la aproximación superior de las curvas de supervivencia experimentalmente moderadas en el ablativo, la gama de dosis alta sin perder las fuerzas del modelo de LQ alrededor del hombro (Park C, 2008)

El USC fue construido por la hibridación dos modelos radiobiológicos clásicos: el modelo de LQ y el modelo multiobjetivo. Asumiendo que el modelo LQ da una buena descripción para la radioterapia fraccionada de manera convencional (CFRT). Para dosis de ablativo más allá del hombro la curva de supervivencia mejor descrita como una línea recta, como se predice en el modelo multiobjetivo (Park C, 2008)

El USC suavemente interpola de una parábola predicha por el modelo de LQ a la asíntota terminal del modelo multiobjetivo en la región de dosis alta del modelo USC encontradas en dos funciones de equivalencia, la dosis biológicamente eficaz y la dosis de equivalente de fracción sola tanto para CFRT como para SBRT. El modelo de USC puede ser usado sacar relaciones iso-efecto (funciones de dosis equivalentes) de alguno arbitrariamente fraccionaron RT. Para SBRT, un concepto nuevo de la dosis de equivalente de fracción sola (SFED) puede servir como un modo alternativo y más intuitivo de comparar esquemas de fraccionamiento de dosis diferentes. Se define SFED como la dosis entregada en una fracción sola que tendría el mismo efecto biológico que el esquema de fraccionamiento de dosis en cuestión. Para una dosis total la D dada en fracciones de n , cada fracción con la dosis, la d , SFED es determinada por la intersección de la curva de supervivencia de fracción sola y la línea horizontal isoefecto que cruza la curva de supervivencia eficaz (Park C, 2008).

Figura 2 La curva de supervivencia universal (USC) y la transición entre la dosis se extiende en el cual lineal cuadrático (LQ) el modelo es válido y la gama de dosis en la cual el modelo multiobjetivo es válido. Debajo de la transición median D_T , USC la curva es idéntico con la curva de modelo de LQ y encima de D_T , USC la curva es idéntico con la parte terminal lineal de curva multiobjetivo modelado (Park C, 2008)



1.3.3 Propuesta Astrahan. (LQ-L)

Recientes avances tecnológicos permiten a la radioterapia ser entregados en una manera sumamente conforme a objetivos localizados casi en todas partes en el cuerpo. Esta capacidad ha renovado el interés clínico a hipofraccionamiento en el que el tumor es entregado unas fracciones de dosis muy grande por fracción. El extrapolar la experiencia clínica de regímenes convencionales a las fracciones de alta dosis es importante para el diseño hipofraccionamiento de tratamientos. (Astrahan, 2008).

La intercomparación de fraccionamientos convencionales con regímenes de hipofraccionamiento puede beneficiarse de los cálculos de (BED) dosis biológicamente efectiva, que en cambio usan una dosis recorren independiente lineal cuadrático-lineal la LQ-L la formulación que mejor encaja los datos experimentales a través de una más amplia gama de dosis. (Astrahan, 2008).

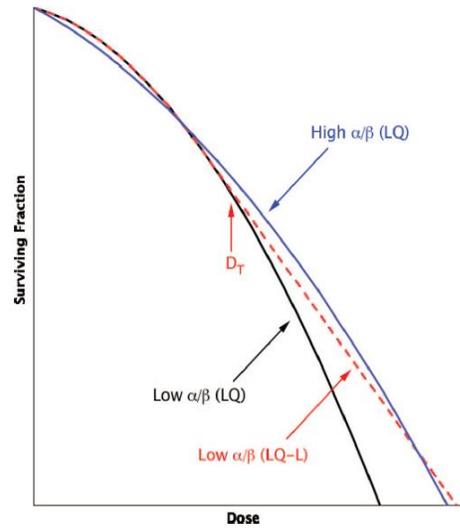
Las implicaciones dosimétricas de LQ-L son exploradas usando un modelo simple que requiere sólo la especificación de una dosis DT en el cual las transiciones de curva de LQ a la linealidad final y la célula logren aniquilar por Gy en la parte final lineal de la curva de supervivencia en la alta dosis. Lo muestran que la tangente de línea a la curva de LQ en la transición médica DT a menudo puede ser usada acercarse sobre la cuesta final de la curva de respuesta de dosis (Astrahan, 2008).

Las limitaciones de la formulación LQ son que no es compatible con algunos ejemplos de supervivencia de célula clonogenicas y que esta incorrectamente modelada, la disminución experimentalmente observada exponencial de supervivencia de célula con la dosis en la alta dosis (Astrahan, 2008)

La prueba de una curva lineal cuadrática lineal a los datos experimentales dosis-respuesta es una solución simple a este problema. Los modelos de LQ-L probablemente encontrarán su utilidad mayor clínica intercomparando regímenes convencionales e hipofraccionamiento para aquellas reacciones que exponen la respuesta de dosis de LQ-L y son de bajo α/β porque la transición a la linealidad final bien podría caerse en algún sitio dentro de la gama de las dosis que podrían ser consideradas para hipofraccionamiento (Astrahan, 2008)

La formulación de LQ-L propuesta, puede haber una amplia variedad de datos de respuesta de dosis sobre una muy amplia gama de dosis que cede una dosis recorre la aproximación independiente para α/β , que, a su turno, permite la (BED) pueda ser intercomparado sobre una amplia gama de dosis (Astrahan, 2008).

Figura 3 Demostración de ilustración de principio como α/β las diferencias podrían ser explotadas si el bajo α/β la respuesta expone el comportamiento de LQ-L Y $D_{T=2\alpha/\beta}$ Gy (Astrahan, 2008)



1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Objetivo General

Analizar curvas de supervivencia celular realizando una comparación de los ajustes lineal cuadrático y cúbico para determinar la efectividad de su análisis.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Implementar los ajustes matemáticos, lineal cuadrático, y cúbico en tres muestras diferentes de cultivo celular en Matlab.
- Realizar una comparación y análisis de las curvas resultantes entre los métodos cuadrático, y cúbico.
- Determinar y validar el modelo más efectivo de análisis en supervivencia celular, según los modelos planteados.

2. MARCO TEÓRICO

Los fenómenos físicos que se presentan en la interacción de la radiación con los átomos que constituyen las células generan excitación o ionización que desestabilizan la estructura normal de las moléculas que se encuentran en el mismo. Un electrón de alta energía se demora alrededor de 10-18s para atravesar una molécula de ácido desoxirribonucleico ADN, generando rupturas en una o ambas de sus hélices (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014)

El citoplasma está compuesto principalmente de agua, éstas son las moléculas que se ven afectadas principalmente por la radiación. Ellos reaccionan químicamente dentro de la célula entre sí y con otros constituyentes celulares, la producción de radicales libres altamente reactivos que se añaden al ADN, alterando su constitución química. Casi todos los procesos que tienen lugar en las células requieren enzimas que actúan como catalizadores para acelerar estos procesos y para encontrar el equilibrio. Por ello se espera que sean reparados con éxito muchas de las lesiones producidas por radiaciones. Pero dependiendo del grado de complejidad, la lesión puede conducir a la muerte celular o intervenir seriamente en el ciclo de división celular mitótico. En estos procesos biológicos, el ADN busca la reparación y la célula en su totalidad busca volver a la función normal (Garzón, Plazas, & Salazar, 2014).

2.1 BIOLOGÍA Y RADIACIÓN

Estudios experimentales y teóricos en la biología de radiación contribuye al desarrollo de radioterapia en tres niveles diferentes, moviendo a su turno de la mayor parte de general al más específico: (Joiner & Kogerl, 2009)

- Ideas - el suministro de una base conceptual para la radioterapia, la identificación de mecanismos y procesos que son la base de la respuesta de tumores y tejidos normales a la irradiación y que ayudan a explicar fenómenos observados. Los ejemplos son el conocimiento sobre la hipoxia, la nueva oxigenación, la repoblación de célula de tumor o los mecanismos de reparación de daño de ADN. (Joiner & Kogerl, 2009)
- Estrategia de tratamiento - desarrollo de nuevos accesos específicos en radioterapia. Los ejemplos son la célula hipoxia sensible, agente apuntado, la transferencia de energía la radioterapia (LET), la radioterapia acelerada y el hiperfraccionamiento. (Joiner & Kogerl, 2009)
- Protocolos - consejo sobre la opción de listas para radioterapia clínica. Por ejemplo, fórmulas de conversión para cambios de fraccionamiento o tarifa de dosis, o consejo sobre si hay que usar quimioterapia simultáneamente o secuencialmente con radiación. También podemos incluir bajo estos métodos de

título para predecir el mejor tratamiento para el paciente individual (la radioterapia individualizada). (Joiner & Kogerl, 2009)

Hay sin duda que la radiobiología ha sido muy fructuosa en la generación de nuevas ideas y en la identificación de mecanismos potencialmente explotables. Una variedad de nuevas estrategias de tratamiento ha sido producida, pero lamentablemente, pocos de estos hasta ahora han conducido a beneficios demostrables clínicos (Iwato, 1999)

Con respecto a tercio de los niveles catalogados encima, las fórmulas más recientes de conversión basadas en el lineal cuadrática (LQ) la ecuación parecen ser acertadas. Sin embargo, más allá de esto, la capacidad de ciencia de laboratorio para dirigir la radioterapia en la opción de protocolos específicos es limitada por la insuficiencia de los modelos teóricos y experimentales: siempre será necesario confiar en ensayos clínicos para la opción final de un protocolo (Fontes Neto F, 2010).

2.2 CÉLULA.

La célula es una unidad mínima de un organismo capaz de actuar de manera autónoma. Todos los organismos vivos están formados por células, y en general se acepta que ningún organismo es un ser vivo si no consta al menos de una célula. Las células de los tejidos animales suelen ser compactas, entre 10 y 20 μm de diámetro y con una membrana superficial deformable y casi siempre muy plegada. (La célula, 2016)

En el interior de las células tienen lugar numerosas reacciones químicas que les permiten crecer, producir energía y eliminar residuos. El conjunto de estas reacciones se llama metabolismo (término que proviene de una palabra griega que significa cambio) (La célula, 2016)

Todas las células contienen información hereditaria codificada en moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN); esta información dirige la actividad de la célula y asegura la reproducción y el paso de los caracteres a la descendencia (La célula, 2016)

2.2.1 Composición química.

En los organismos vivos no hay nada que contradiga las leyes de la química y la física. La química de los seres vivos, objeto de estudio de la bioquímica, está dominada por compuestos de carbono y se caracteriza por reacciones acaecidas en solución acuosa y en un intervalo de temperaturas pequeño. La química de los organismos vivientes es muy compleja, más que la de cualquier otro sistema químico conocido. Está dominada y coordinada por polímeros de gran tamaño, moléculas formadas por encadenamiento de subunidades químicas; las propiedades únicas de estos compuestos permiten a células y organismos crecer y reproducirse. Los tipos principales de macromoléculas son las proteínas, formadas por cadenas lineales de aminoácidos; los ácidos nucleicos, ADN y ARN, formados por bases nucleotídicas, y los polisacáridos, formados por subunidades de azúcares. Las células eucarióticas, que forman todos los demás organismos vivos,

incluidos protozoos, plantas, hongos y animales, son mucho mayores (entre 10 y 50 μm de longitud) y tienen el material genético envuelto por una membrana que forma un órgano esférico conspicuo llamado núcleo. De hecho, el término eucariótico deriva del griego 'núcleo verdadero', mientras que procariótico significa 'antes del núcleo' (La célula, 2016).

2.2.2 Partes de la célula.

El núcleo.

El órgano más conspicuo en casi todas las células animales y vegetales es el núcleo; está rodeado de forma característica por una membrana, es esférico y mide unas 5 μm de diámetro. Dentro del núcleo, las moléculas de ADN y proteínas están organizadas en cromosomas que suelen aparecer dispuestos en pares idénticos. Los cromosomas están muy retorcidos y enmarañados y es difícil identificarlos por separado. Pero justo antes de que la célula se divida, se condensan y adquieren grosor suficiente para ser detectables como estructuras independientes. El ADN del interior de cada cromosoma es una molécula única muy larga y arrollada que contiene secuencias lineales de genes. Éstos encierran a su vez instrucciones codificadas para la construcción de las moléculas de proteínas y ARN necesarias para producir una copia funcional de la célula. (La célula, 2016)

El núcleo está rodeado por una membrana doble, y la interacción con el resto de la célula (es decir, con el citoplasma) tiene lugar a través de unos orificios llamados poros nucleares. El nucléolo es una región especial en la que se sintetizan partículas que contienen ARN y proteína que migran al citoplasma a través de los poros nucleares y a continuación se modifican para transformarse en ribosomas. El núcleo controla la síntesis de proteínas en el citoplasma enviando mensajeros moleculares. El ARN mensajero (ARNm) se sintetiza de acuerdo con las instrucciones contenidas en el ADN y abandona el núcleo a través de los poros. Una vez en el citoplasma, el ARNm se acopla a los ribosomas y codifica la estructura primaria de una proteína específica (La célula, 2016).

Citoplasma y citosol.

El citoplasma comprende todo el volumen de la célula, salvo el núcleo. Engloba numerosas estructuras especializadas y orgánulos, como se describirá más adelante. La solución acuosa concentrada en la que están suspendidos los orgánulos se llama citosol. Es un gel de base acuosa que contiene gran cantidad de moléculas grandes y pequeñas, y en la mayor parte de las células es, con diferencia, el compartimiento más voluminoso (en las bacterias es el único compartimiento intracelular). En el citosol se producen muchas de las funciones más importantes de mantenimiento celular, como las primeras etapas de descomposición de moléculas nutritivas y la síntesis de muchas de las grandes moléculas que constituyen la célula (La célula, 2016)

Aunque muchas moléculas del citosol se encuentran en estado de solución verdadera y se desplazan con rapidez de un lugar a otro por difusión libre, otras están ordenadas de forma rigurosa. Estas estructuras ordenadas confieren al citosol una organización interna que actúa como marco para la fabricación y descomposición de grandes moléculas y canaliza muchas de las reacciones químicas celulares a lo largo de vías restringidas (La célula, 2016).

Cito esqueleto.

El cito esqueleto es una red de filamentos proteicos del citosol que ocupa el interior de todas las células animales y vegetales. Adquiere una relevancia especial en las animales, que carecen de pared celular rígida, pues el cito esqueleto mantiene la estructura y la forma de la célula. Actúa como bastidor para la organización de la célula y la fijación de orgánulos y enzimas. También es responsable de muchos de los movimientos celulares (La célula, 2016)

Los espermatozoides nadan con ayuda de flagelos, por ejemplo, y las células que revisten el intestino y otros conductos del cuerpo de los vertebrados tienen en la superficie numerosos cilios que impulsan líquidos y partículas en una dirección determinada. Se encuentran grandes haces de filamentos de actina en las células musculares donde, junto con una proteína llamada miosina, generan contracciones poderosas (La célula, 2016)

Los movimientos asociados con la división celular dependen en animales y plantas de los filamentos de actina y los micro túbulos, que distribuyen los cromosomas y otros componentes celulares entre las dos células hijas en fase de segregación. Las células animales y vegetales realizan muchos otros movimientos para adquirir una forma determinada o para conservar su compleja estructura interna (La célula, 2016)

Mitocondrias y cloroplastos.

Las mitocondrias son uno de los orgánulos más conspicuos del citoplasma y se encuentran en casi todas las células eucarióticas. Observadas al microscopio, presentan una estructura característica: la mitocondria tiene forma alargada u oval de varias micras de longitud y está envuelta por dos membranas distintas, una externa y otra interna, muy replegada (La célula, 2016).

Las mitocondrias son los orgánulos productores de energía. La célula necesita energía para crecer y multiplicarse, y las mitocondrias aportan casi toda esta energía realizando las últimas etapas de la descomposición de las moléculas de los alimentos.

Estas etapas finales consisten en el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono, proceso llamado respiración, por su similitud con la respiración pulmonar. Sin mitocondrias, los animales y hongos no serían capaces de utilizar oxígeno para extraer toda la energía de los alimentos y mantener con ella el crecimiento y la capacidad de

reproducirse. Los organismos llamados anaerobios viven en medios sin oxígeno, y todos ellos carecen de mitocondrias (La célula, 2016)

Membranas internas.

Núcleos, mitocondrias y cloroplastos no son los únicos orgánulos internos de las células eucarióticas delimitados por membranas. El citoplasma contiene también muchos otros orgánulos envueltos por una membrana única que desempeñan funciones diversas. Casi todas guardan relación con la introducción de materias primas y la expulsión de sustancias elaboradas y productos de desecho por parte de la célula. Por ello, en las células especializadas en la secreción de proteínas, por ejemplo, determinados orgánulos están muy atrofiados; en cambio, los orgánulos son muy numerosos en las células de los vertebrados superiores especializadas en capturar y digerir los virus y bacterias que invaden el organismo (La célula, 2016)

La mayor parte de los componentes de la membrana celular se forman en una red tridimensional irregular de espacios rodeada a su vez por una membrana y llamada retículo endoplasmático (RE), en el cual se forman también los materiales que son expulsados por la célula. El aparato de Golgi está formado por pilas de sacos aplanados envueltos en membrana; este aparato recibe las moléculas formadas en el retículo endoplasmático, las transforma y las dirige hacia distintos lugares de la célula (La célula, 2016)

Los lisosomas son pequeños orgánulos de forma irregular que contienen reservas de enzimas necesarias para la digestión celular de numerosas moléculas indeseables. Los peroxisomas son vesículas pequeñas envueltas en membrana que proporcionan un sustrato delimitado para reacciones en las cuales se genera y degrada peróxido de hidrógeno, un compuesto reactivo que puede ser peligroso para la célula. Las membranas forman muchas otras vesículas pequeñas encargadas de transportar materiales entre orgánulos. En una célula animal típica, los orgánulos limitados por membrana pueden ocupar hasta la mitad del volumen celular total (La célula, 2016).

2.2.3 Ciclo celular.

El ciclo celular (también llamado ciclo de división celular) es una secuencia de sucesos que conducen primeramente al crecimiento de la célula y posteriormente a la división en células hijas. El ciclo celular se inicia en el instante en que aparece una nueva célula, descendiente de otra que se ha dividido, y termina en el momento en que dicha célula, por división subsiguiente, origina nuevas células hijas. (Ciclo, 2016).

El ciclo celular es la base para la reproducción de los organismos. Su función no es solamente originar nuevas células sino asegurar que el proceso se realice en forma debida y con la regulación adecuada (con controles internos para evitar la posible creación de células con múltiples errores) (Ciclo, 2016).

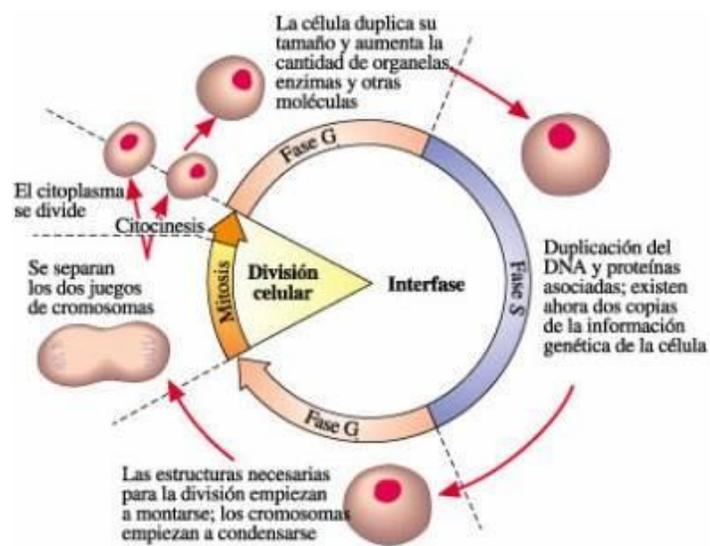
La creación de nuevas células permite al organismo mantenerse en un constante equilibrio, previniendo así aquellos desórdenes que puedan perjudicar su salud (enfermedades congénitas, cáncer, etc.). Los controles internos en la célula son ejecutados por proteínas que no permiten que se presenten situaciones desastrosas (enfermedades) para un ser vivo. Las células que no entrarán en división no se consideran que estén en el ciclo celular. (Ciclo, 2016)

En rigor, el ciclo celular (la secuencia de sucesos) comprende dos periodos bien nítidos: a interface (etapas G_1 – S y G_2) y la división celular (etapa M). Esta última tiene lugar por mitosis o meiosis (Ciclo, 2016)

La interface es el período comprendido entre divisiones celulares. Es la fase más larga del ciclo celular, ocupando casi el 95 por ciento del ciclo, transcurre entre dos mitosis y como ya vimos se divide en tres sub etapas: G_1 , S y G_2 (Ciclo, 2016)

El estado o etapa G_1 , del inglés Growth o Gap₁ (Intervalo 1), es la primera fase del ciclo celular, en la que existe crecimiento celular con síntesis de proteínas y de ARN. Es el período que transcurre entre el fin de una mitosis y el inicio de la síntesis de ADN. Tiene una duración de entre 6 y 12 horas, y durante este tiempo la célula duplica su tamaño y masa debido a la continua síntesis de todos sus componentes, como resultado de la expresión de los genes que codifican las proteínas responsables de su fenotipo particular (Ciclo, 2016).

Figura 4 La división celular, constituida por la mitosis (división del núcleo) y la citocinesis (división del citoplasma), ocurren después de completarse las tres fases preparatorias que constituyen la interface (Ciclo, 2016)



El estado o etapa S (del inglés Synthesis) representa "Síntesis". Es la segunda fase del ciclo, en la que se produce la replicación o síntesis del ADN, como resultado cada cromosoma se duplica y queda formado por dos cromátidas idénticas. Con la duplicación del ADN, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de ADN que al principio. Tiene una duración de unos 6-8 horas (Ciclo, 2016).

El estado o etapa G_2 del inglés Growth o Gap $_2$ (Intervalo 2), es el tiempo que transcurre entre la fase S y el inicio de la mitosis (la célula se prepara para mitosis). Tiene una duración entre 3 y 4 horas. Termina cuando la cromatina empieza a condensarse al inicio de la mitosis (Ciclo, 2016).

El estado o etapa M representa "la fase M", e incluye la mitosis o reparto de material genético nuclear (donde se divide la cromatina duplicada de modo tal que cada célula hija obtenga una copia del material genético o sea un cromosoma de cada tipo) y la citocinesis (división del citoplasma). Si el ciclo completo durara 24 horas, la fase M duraría alrededor de media hora (30 minutos). El final de la mitosis da cabida a un nuevo ciclo en G_1 o puede que la célula entre en fase G_0 que corresponde a un estado de reposo especial característico de algunas células, en el cual puede permanecer por días, meses y a veces años. Las células que se encuentran en el ciclo celular se denominan proliferantes y las que se encuentran en fase G_0 se llaman células quiescentes. Aquí es importante recordar que todas las células se originan únicamente de otra existente con anterioridad. Como todo proceso orgánico, el ciclo celular está sujeto a regulación. Ésta es realizada en sitios específicos llamados puntos de control o de chequeo, que pueden frenar o disparar diversos procesos que le permitan a la célula proseguir con su ciclo normal de replicación del material genético, crecimiento y división. La función de la regulación, básicamente es realizada por proteínas específicas conocidas como cinasas (kdc) y ciclinas (ciclinas A ó B) (Ciclo, 2016).

Las células frente al ciclo.

Hay células que se encuentran permanentemente en el ciclo, como las epiteliales; otras están permanentemente fuera del ciclo, como las neuronas, y otras están fuera del ciclo, pero bajo un estímulo adecuado pueden volver a dividirse, como es el caso de las células hepáticas (Ciclo, 2016).

2.3 RADIOSENSIBILIDAD.

Puesto que la respuesta a la radiación de los tejidos parece tener una componente genética importante, puede suponerse que la radio sensibilidad de las células en cultivo reflejara la expresión genética del individuo del que proceden. Así, si existen diferencias en la radio sensibilidad de los fibroblastos de personas distintas, cabe esperar también una diferencia entre esas personas para otras estirpes celulares (Guirado, 2012).

Esta suposición se ha confirmado en los trabajos de varios grupos, que han mostrado que la radio sensibilidad relativa de diferentes tipos celulares procedentes del mismo individuo

es semejante. Por tanto, un ensayo in vitro podría servir para determinar la sensibilidad potencial de cada individuo y predecir la respuesta de sus tejidos sanos a la radiación. Una primera posibilidad consiste en analizar el daño inicial, en forma de roturas dobles de cadena, en el ADN (Guirado, 2012).

Este análisis no está exento de posibles artefactos, ya que es preciso emplear dosis muy altas y el daño inicial está muy lejos del efecto final que la radiación produce sobre el tejido puesto que, tras este, intervendrán los mecanismos de reparación celular y tisular y efectos que se producen en un plazo más largo, como la inestabilidad genética generada por la radiación. Una segunda opción consiste en la medida del daño residual del ADN, esto es, tras la reparación; lo que supone una mayor complejidad experimental y, por consiguiente, una mayor perturbación del material biológico original. Así los resultados se hacen dependientes de algunos detalles técnicos importantes, como las condiciones del cultivo, y no está más clara que para el daño inicial su relación con los efectos sobre el tejido, aunque el daño residual del ADN pueda considerarse más cerca de esos efectos que el daño inicial. Puede evaluarse la supervivencia celular, lo que exige la realización de un ensayo clonogenico¹ después de extraer las células de un donante y cultivarlas en el laboratorio. Algunos autores han mostrado correlación entre la supervivencia de fibroblastos irradiados y la severidad de las reacciones clínicas a la radioterapia (Guirado, 2012).

La irradiación de la materia viva genera una serie de procesos en cascada que alteran la cinética celular. La radiación ionizante destruye la capacidad de las células en actividad mitótica para reproducirse; son las más sensibles aquéllas que se hallan en fase S o de síntesis proteica, en la que los elementos destruidos son difícilmente recuperables. (Guirado, 2012)

Sin embargo, las células en fase G₀ son prácticamente insensibles a la radiación. Este fenómeno es de suma importancia en la aplicación de tratamientos de radioterapia, teniendo en cuenta que las células de un tejido irradiado tienden a incorporar a la mayoría de células en fase de reposo G₀, como acción compensatoria, de tal manera que si se administra la radioterapia en dosis fraccionadas la repetición de las dosis logrará una mayor destrucción celular y una erradicación más efectiva del tumor (Gomez Soler, 2007)

Los tejidos circundantes al tumor se comportan de forma similar al recibir radiación. Sin embargo, su capacidad de recuperación es mayor, por lo que los efectos a largo plazo son menores y más tolerables que en el tejido tumoral (Gomez Soler, 2007).

Las radiaciones ionizantes provocan destrucción celular, en algunos casos mediante impacto directo de los electrones acelerados sobre la molécula de ADN, aunque son más las células que se ven dañadas por un efecto indirecto. Cuando los rayos penetran en el núcleo celular e interaccionan con las moléculas de agua, ocasionan la formación de radicales de oxígeno. Estos radicales inestables lesionan el ácido desoxirribonucleico y rompen la cadena cromosómica (Gomez Soler, 2007).

Como consecuencia se produce un daño irreparable y la muerte celular inmediata. Algunas células logran sobrevivir, pero son incapaces de subdividirse y mueren durante la mitosis o se degeneran lentamente. La reacción provocada en los tejidos irradiados se denomina radio sensibilidad, entendida ésta como el efecto deseado para lograr la erradicación del tumor y “la probabilidad de que una célula muera al intentar la división, independientemente del tiempo que tarde en iniciar la división”. (Gomez Soler, 2007).

La radio sensibilidad depende de diversos factores:

- Tipo de tejido: los tejidos de proliferación celular rápida (tejido hematopoyético y criptas intestinales) con células muy indiferenciadas son altamente radio sensible. Los de proliferación celular lenta y muy diferenciados (neuronas) tardarán más tiempo en manifestar los efectos de la radiación. Este hecho explicaría los efectos secundarios agudos en los tejidos de proliferación rápida y los efectos secundarios a largo plazo que pueden producir lesiones crónicas (Gomez Soler, 2007).
- Oxigenación: se refiere a las características del medio que condicionan la posibilidad de recuperación celular tras la radiación. Las células bien oxigenadas son más radio sensibles que las hipoxias. El tejido tumoral está formado por células de crecimiento rápido y desordenado que pueden estar situadas a distancia de los vasos nutrientes y que, al no recibir el oxígeno necesario, se sitúan en fase G₀ de reposo y, por lo tanto, son poco sensibles a la radiación. Sin embargo, al destruir las células bien oxigenadas cercanas a los vasos, éstas ocuparán su lugar, pasando a fase S; serán destruidas con la siguiente fracción de radiación recibida (Gomez Soler, 2007).

Estos aspectos, entre otros, son tenidos en cuenta para ajustar las dosis de tratamiento y apoyan la teoría del fraccionamiento de dosis como más eficaz para erradicar los tumores porque permite: (Gomez Soler, 2007)

- La reparación de las células tumorales y de los tejidos sanos en el intervalo entre cada radiación, con la particularidad de que los tejidos sanos están mejor oxigenados y su reparación se logra con mayor eficacia que la de las células tumorales. Este mecanismo, además, se acrecienta a medida que aumenta la dosis de radiación recibida, lo que permite destruir el tejido tumoral con lesiones “aceptables” de los tejidos sanos. Disminuyen los efectos agudos de la radiación y se logra una mejor tolerancia al tratamiento (Gomez Soler, 2007).
- La re-oxigenación de las células del tejido tumoral aumenta con las dosis recibidas, lo que mejora su radiosensibilidad y el efecto terapéutico. Por otra parte, la citólisis también tiene el efecto de liberar vasos hasta entonces comprimidos por el tumor, con lo que aumentan el aporte sanguíneo y la oxigenación de las células (Gomez Soler, 2007).

- La repoblación de las células tumorales está demostrada en el cáncer de vejiga, en el melanoma, en el cáncer cutáneo, en el cáncer inflamatorio de mama y en los tumores de cabeza y cuello. Este fenómeno se tiene en cuenta al planificar el tratamiento, no se prolongará la duración total del mismo más tiempo del estrictamente necesario y se evitarán las interrupciones por reacciones agudas en lo posible. Por último, los tumores de crecimiento rápido deben ser tratados rápidamente. (Gomez Soler, 2007)
- La redistribución es otro fenómeno que contribuye a lograr el efecto terapéutico que se desea. Ya se ha descrito que las células tienen una mayor radiosensibilidad si se encuentran en fases activas de mitosis, hecho que se produce casi de forma simultánea en el tejido tumoral cuando se captan células G0 hasta ese momento en reposo, para compensar la destrucción que produce la radiación (Gomez Soler, 2007)

Tabla 1. Tipos de tumores y radiosensibilidad, tomado de Principios de radioterapia (radioterapia) (Gomez Soler, 2007)

| Tumor | Radiosensibilidad |
|---|-------------------|
| Linfoma Leucemia Seminoma | Alta |
| Tumores ORL Vesical Epitelial Cérvix Tracto digestivo Hepatoma Páncreas Renal Sarcoma | Media |
| Rabdomiosarcoma | Baja |

2.4 LÍNEAS CELULARES Y SUS CARACTERÍSTICAS.

En el presente trabajo se estudiarán 3 líneas celulares específicas, (Melanoma (FON), mama (T47D) y cuello uterino (HeLa); por lo tanto es importante precisar sus características para una mejor comprensión y análisis.

2.4.1 Células cáncer de mama T47D.

T47D es una línea celular del cáncer epitelial usado ampliamente, derivado del adenocarcinoma de mama. Las células mantienen características diferenciadas del epitelio mamario, incluida la habilidad de procesar el estradiol vía receptores de estrógeno

citoplásmico. Aunque es fácil de propagar, estas células son generalmente de crecimiento lento.

Los esferoides tumorales son agrupaciones celulares que crecen en suspensión in vitro sin ningún soporte sólido, en donde los elementos formes que los constituyen se unen fuertemente entre sí y reproducen estructuras que reflejan, en diferente grado, la organización tisular de la que proceden. En la actualidad se han obtenido esferoides multicelulares a partir de líneas celulares tumorales establecidas y especímenes quirúrgicos procedentes tanto de tejidos humanos como animales. Los esferoides tumorales multicelulares presentan cualidades biológicas comunes con los tumores sólidos, pudiendo simular las metástasis en sus primeras etapas de desarrollo constituyendo así un modelo fundamental en la investigación de la biología del cáncer (Aranda Haro, 2003).

El crecimiento de los esferoides multicelulares es consecuencia de la multiplicación de los clonógenos de la población celular que los constituye, crecimiento que puede ser manipulado modificando las condiciones medio ambientales en donde éstos se desarrollan. Los esferoides de gran tamaño presentan, invariablemente, áreas de necrosis central como consecuencia de la muerte celular provocada por la disminución local de oxígeno, déficit en el aporte de nutrientes y descenso del mismo, al igual que los tumores en animales de experimentación, tienen unas características de crecimiento - tiempo de duplicación del volumen, distribución en el ciclo celular, densidad de empaquetamiento y adherencia intercelular que los hacen muy semejantes a los tumores humanos in vivo; sin embargo dos factores los hacen claramente diferentes de éstos: 1) la ausencia de vascularización, lo que supone que oxígeno y nutrientes se suplen enteramente por difusión y, 2) la inexistencia de un hospedador, por lo que el sistema inmune o la respuesta antitumoral de éste no influyen sobre el devenir de la población celular, al menos en los modelos de esferoides más sencillos (Aranda Haro, 2003)

Así mismo la respuesta de los esferoides a la radiación y sus posibilidades predictivas acerca del comportamiento tumoral, dependen en gran medida de su estructura y de su cinética de crecimiento (Aranda Haro, 2003).

2.4.2 Radiosensibilidad T47D.

Se presentó como un método fiable para comparar la respuesta a la radiación de líneas celulares in vitro con la radorrespuesta clínica de idénticas estirpes tumorales T47D y MCF7.

Estas dos líneas celulares de cáncer de mama dependientes de hormonas humanas que son ampliamente utilizados como modelos experimentales para in vitro y ex vivo en estudios de cáncer de mama; varias proteínas implicadas en el desarrollo del cáncer se identificaron en estas líneas celulares por análisis proteómicos, aunque estos estudios informaron los perfiles proteómicos de cada línea celular, hasta ahora, no se han establecido sus perfiles de expresión diferencial de proteínas. Las proteínas identificadas

en las líneas tienen probablemente un porcentaje de similitud cercano al 95% y con al menos dos péptidos únicos emparejados se consideraron en el análisis. (Aka & Lin, 2012)

De acuerdo a la similitud de respuesta de las líneas celulares de estudio en cáncer de mama se toma como referencia el artículo de acuerdo a la respuesta celular se hace referencia a la línea MCF7.

La expresión del daño provocado por la radiación ionizante sobre los esferoides MCF7 puede evaluarse de formas muy distintas, similares a las utilizadas en la investigación clínica en los estudios de radiosensibilidad, si bien es necesario elegir la metodología más apropiada, así como un correcto ajuste de los resultados para cada uno de los fenómenos que se investigan (Aranda Haro, 2003).

La formación individual de los esferoides que permite una menor manipulación de los mismos y consigue una población de esferoides homogénea en su tamaño desde su inicio, con grupos experimentales similares para cada dosis y protocolo de irradiación elegido; la aproximación teórica para la normalización a un volumen inicial común (VIC) que hace posible derivar los parámetros de crecimiento de los esferoides (Aranda Haro, 2003).

Los esferoides multicelulares una vez irradiados con un rango de dosis comprendida entre 0 y 6 Gy no recobran la cinética de crecimiento correspondiente a los esferoides de control al menos durante el tiempo de observación, esto se concreta en una disminución del parámetro (Aranda Haro, 2003).

Las células MCF7 irradiadas formando esferoides multicelulares de tamaño comprendido entre 150-200 μm de diámetro son menos sensibles a la radiación que las tratadas formando una monocapa. Los parámetros de radiosensibilidad estimados el valor de las constantes α , β del modelo lineal cuadrático y fracción de supervivencia a 2 Gy a partir de los ensayos clonogénicos para monocapa y esferoides multicelulares, y de los ensayos de *cure* para esos últimos, así lo demuestra. Una tendencia idéntica ha podido ser demostrada tras la cuantificación del daño producido por la radiación a nivel del DNA en ambos modelos, el número de lesiones es menor en las células irradiadas como esferoides multicelulares respecto al que se produce cuando se tratan formando una monocapa (Aranda Haro, 2003).

La explicación a estas diferencias en radiosensibilidad acepta varias alternativas: el menor grado de lesión molecular producido para igual dosis de radiación, las diferencias en eficiencia en la reparación de las lesiones, o la peculiar distribución celular en estadios proliferativos o no del ciclo celular (Aranda Haro, 2003).

El protocolo experimental más adecuado para determinar la radiosensibilidad de los esferoides o de muestras tumorales in vivo requiere de la irradiación a dosis con significación clínica: 1-5 Gy, además de tiempo entre dosis que permitan la reparación

completa y se minimice el reclutamiento y la regeneración acelerada, y del empleo de esferoides de pequeño tamaño (<200 μm) en los que no se evidencien fenómenos de hipoxia celular (Aranda Haro, 2003).

2.4.3 Células cáncer de cuello uterino- Hela.

Una célula HeLa es un tipo celular clasificado en una línea celular inmortal usado en la investigación científica. Es la más antigua y común línea celular usada en humanos. La línea derivó de unas células de cáncer cervical obtenidas el 8 de Febrero de 1951 de Henrietta Lacks, una paciente quien, eventualmente, murió de cáncer el 4 de Octubre de 1951. La línea celular resultó ser de gran durabilidad comparada con las múltiples otras líneas celulares que se usan en investigación. Las células HeLa han sido usadas para investigar como el virus Parvo infecta las células humanas, Hela, perros y gatos (Celeromics Células, 2016).

La línea celular HeLa fue derivada de la investigación del cáncer. Estas células proliferan anormalmente rápido, incluso comparándolas con otras células cancerígenas. Como otras muchas células cancerígenas, las células HeLa tienen una versión activa de telomerase durante la división celular, que previene la reducción incremental de telómeros que implica el envejecimiento y la eventual muerte celular. De esta manera las células eluden el límite de Hayflick, que es la limitación de divisiones celulares que las células normales pueden realizar antes de convertirse en senescentes (Celeromics Células, 2016).

Características de la línea celular HeLa:

- Tamaño: 20 micrones de diámetro (núcleo celular mamífero ~10 micrones diámetro).
- Adherente/No adherente: Adherente.
- Tipo celular: célula inmortal.
- Fuente celular: Tejido del cérvix (Celeromics Células, 2016).

2.4.4 Algunas consideraciones en radio sensibilidad en Hela.

Las células derivadas de carcinoma cervical pueden llegar a ser menos sensibles a la apoptosis inducida por hipoxia, lo que sugiere que la integración del ADN viral puede llevar a la inmortalización de la célula infectada por el virus (Fontes Neto F, 2010)

En distintos estadios, no se ha encontrado ninguna correlación entre los valores de $p\text{O}_2$ y la proliferación, lo cual sugeriría que son factores predictivos independientes en este tipo tumoral. Se ha observado que el estado de oxigenación pre-tratamiento puede predecir la supervivencia global, la supervivencia libre de enfermedad, y/o el control local en pacientes con cáncer cervical (Fontes Neto F, 2010)

La capacidad de predecir la respuesta al tratamiento, especialmente en relación a la respuesta a la radioterapia, podría aportar nuevos datos en el camino de la individualización del manejo de pacientes, facilitando la elección de la modalidad de tratamiento primario o si se requiere o no tratamiento adyuvante (Fontes Neto F, 2010)

2.4.5 Células cáncer de piel (Melanoma) – Fon.

El melanoma es una neoplasia maligna que se forma a partir de células epiteliales, denominadas melanocitos. Los melanocitos se ubican en la lámina basal que separa la epidermis de la dermis. Su función es la de sintetizar melanina, la cual es responsable de la pigmentación de los tejidos y posee propiedades antioxidantes que neutralizan los radicales libres producidos por la acción de la radiación ultravioleta del sol (Negrin, 2015)

Ocurre la transformación del melanocito normal en una célula neoplásica. Las alteraciones genéticas se desarrollan en función de dos tipos de genes, genes supresores de tumores y oncogenes. Dichas alteraciones producen una falla en la regulación del crecimiento celular que conlleva a la proliferación descontrolada de las células (Negrin, 2015).

Se produce la invasión local, las células son capaces de progresar a través de la dermis. Para que se cumpla esta migración celular es preciso que las células tumorales atraviesen la membrana basal, estimuladas por factores quimio tácticos producidos por células normales y tumorales y por componentes de la matriz extracelular. Juegan un papel fundamental en este período las moléculas de adhesión celular, los factores de crecimiento y los factores angiogénicos. Los eventos de progresión de este período descritos por el modelo de Clark son:

- La fase de crecimiento radial, donde las células adquieren la capacidad de proliferar intra-epidérmicamente
- La fase de crecimiento vertical, donde adquieren la capacidad de invadir la dermis (Negrin, 2015).

El paso final es la difusión de las células a otras áreas de la piel u otros órganos, en donde puedan proliferar con éxito y establecer un foco metastásico (Negrin, 2015).

El estudio histológico del melanoma se basa en la presencia de una proliferación tumoral melanocítica atípica acompañada de cambios epidérmicos y respuesta inflamatoria y dérmica. En las fases iniciales la proliferación de melanocitos atípicos está limitada a la epidermis (in situ), con presencia de melanocitos en todos los niveles epidérmicos (Crecimiento radial). Los melanocitos atípicos se disponen individualmente y en nidos de tamaño y forma heterogénea. A medida que la lesión progresa puede existir afectación de

dermis observándose células tumorales sueltas y en nódulos (Crecimiento vertical) de tamaño y forma variable (Alegre, 2016).

Las células del melanoma son de morfología variable, cuboidales o fusiformes y suelen mostrar ausencia de maduración nuclear (reducción del tamaño nuclear en profundidad) así como mitosis y necrosis celular. Los melanomas se acompañan de una respuesta inflamatoria con presencia de infiltrado inflamatorio de predominio linfo-histiocitario que puede ser variable en su distribución e intensidad. Otro hallazgo histológico característico del melanoma es la observación de fenómenos de regresión histológica que consiste en la presencia de un denso infiltrado inflamatorio con presencia de melanófagos y áreas variables de fibrosis dérmica. Existen datos histológicos que son importantes de cara a conocer el pronóstico de un melanoma entre los que se incluyen el grosor en milímetros del tumor (índice de Breslow), la presencia de ulceración, el número de mitosis y la presencia de satelitosis e invasión vascular (Alegre, 2016).

2.4.6 Radiosensibilidad células melanoma.

Tradicionalmente, el melanoma es considerado un tumor escasamente radio sensible por lo que la cirugía sigue siendo el tratamiento preferencial para pacientes con melanoma. Existe una estrecha relación en la expresión de la molécula HLA-G en el aumento de la radiosensibilidad de las células se podría sugerir la participación de la molécula HLA-G en la radiosensibilidad tumoral (Michelin , Gallegos , Dubner, & Baffa Trasci, 2010)

Las diferentes líneas de células de melanoma presentan un comportamiento más agresivo y un fenotipo más indiferenciado, con capacidad de invasión y metástasis y muestran mayor resistencia a los efectos citotóxicos de las radiaciones ionizantes que las células otras líneas en los estudios realizados (Negrin, 2015).

Se ha podido observar una tendencia de menor inducción de daño en las células G10, respecto del control y A7, que podría deberse a la inducción de menor daño en este tipo celular o bien a una respuesta defectuosa en la señalización del daño, lo cual puede inferirse del análisis de expresión. Los diferentes resultados de radiosensibilidad permiten disponer de una primera aproximación de la regulación génica de los procesos asociados a la modulación de la radiosensibilidad intrínseca en células de melanoma para el estudio de biomarcadores predictivos de radiosensibilidad a ser incorporados en la terapia radiante. Se encuentra el estudio del gen MRE11 como un potencial biomarcador de radiosensibilidad intrínseca que permita identificar tempranamente la estrategia terapéutica más apropiada y específica a ser aplicada para cada paciente, maximizando su probabilidad de curación. Nuevos estudios deberán llevarse a cabo para continuar probando la validez de este gen como biomarcador. Algunas de las pruebas a realizar serían: analizar si los estudios de expresión se correlacionan con el nivel de proteína encontrada en las células, aumentar el número líneas celulares en estudio y estudiar si la correlación se mantiene en distintos tipos celulares, entre otros (Negrin, 2015).

2.5 RADIOTERAPIA

La radioterapia es una modalidad de tratamiento local en la que se utilizan radiaciones ionizantes. La radiación altera el material genético de las células cancerosas y las destruye parando su crecimiento (Asociación de oncología radioterapia, 2015).

La radiación se dirige específicamente al tumor por lo que se minimiza la afectación de las células sanas. En caso de tumores que por su tamaño o su localización no son operables, la radioterapia se puede usar para disminuir el tamaño de los tumores haciéndolos más accesibles para que luego puedan ser extirpados quirúrgicamente. También se usa de forma paliativa como tratamiento del dolor asociado al tumor o a sus metástasis. (Gomez Soler, 2007).

La radiación aniquila las células enfermas mediante la obtención secundaria de partículas cargadas y los radicales libres en el núcleo que al mismo tiempo producen una modificación de tipos de daños en el ADN (Asociación de oncología radioterapia, 2015)

La evidencia de que el daño al ADN es la primera causa de la muerte celular y la mutación por la radiación. Por Cada 1Gy de dosis de transferencia de energía promedio de radiación produce daño. Muchas veces las lesiones son más importantes que otras y la letalidad de la radiación se correlaciona más significativamente con el número de DSBs residuales, sin reparar varias horas después de la irradiación. Si la muerte de células se modifica cambiando LET, nivel de oxígeno, y temperatura (Asociación de oncología radioterapia, 2015).

Las rupturas de cadena sencilla, daño base y entrecruzamientos ADN-proteína no reflejan el cambio en la celda matar por todos estos modificadores. Se piensa que reflejan el cambio en la celda matar por todos estos modificadores (Salud al día cáncer radioterapia, 2015).

Se piensa que un sólo una OSD residual (o 'golpeó') en una sección vital de ADN puede ser suficiente para producir una aberración cromosómica significativa y por lo tanto para esterilizar la célula (Salud al día cáncer radioterapia, 2015).

Diferentes técnicas se han detallado para descubrirla formación de colonias por células tumorales y por lo tanto para la medición de la supervivencia celular.

Casi todos requieren primero la producción de suspensiones de una sola célula. Esto por lo general no es sencillo, ya que los tejidos tumorales difieren ampliamente en la facilidad con la que pueden ser desagregadas. Las enzimas tales como tripsina, colagenasa y pronasa se utilizan a menudo y algunos tejidos pueden ser desvinculados mecánicamente (Salud al día cáncer radioterapia, 2015).

2.6 CURVAS DE SUPERVIVENCIA CELULAR.

Las curvas de supervivencia celular se emplean en radiobiología para expresar la acción de la radiación sobre la tasa de supervivencia de las células en el cuerpo (Valente M, 2009).

Las curvas de supervivencia celular son convenientes debido a que son una representación visual, que permite determinar y analizar de la muerte que se está causando a partir de la radiación aplicada a las células, son modelos matemáticos de las tasas de supervivencia de células normales o anormales, especies tan distintas se pueden comparar fácilmente uno contra el otro (Valente M, 2009).

La proporción de células sobrevivientes, disminuye cuando la dosis aumenta. Las tasas de supervivencia dependerán de la dosis, del sistema celular estudiado, y de las condiciones de estudio. Para radiaciones fuertemente ionizantes (alto LET), la curva dosis-respuesta es exponencial, la que resulta una recta en escala semi-logarítmica. Las curvas pueden ser caracterizadas básicamente por la pendiente, y por la dosis de inactivación media necesaria para reducir la supervivencia en un 37% (Valente M, 2009).

Las curvas con radiación de bajo LET tienen un hombro inicial seguido de una parte rectilínea o casi rectilínea en escala semi-logarítmica. Se caracteriza por tener una D_0 en la parte exponencial de la curva, un número de extrapolación n y una dosis cuasi umbral (D_q) que es el valor de la intersección de la parte rectilínea de la curva sobre el eje de las dosis (Valente M, 2009).

2.6.1 Curvas con hombro.

La tasa de supervivencia de la mayor parte de las células representa una incurvación convexa inicial (hombro). Frecuentemente la curva tiende a ser rectilínea y entonces podemos introducir el parámetro D_0 . (Sociedad argentina de radio protección, 2015)

La extrapolación de la recta terminal hasta el eje de las ordenadas define un valor n , llamada también número de extrapolación (Sociedad argentina de radio protección, 2015)

La tangente inicial en estas curvas suele tener una pendiente nula. Otras curvas presentan una incurvación continua en todo el espectro de dosis explorado. La interpretación de estas curvas puede hacerse desde varios encuadres:

- La muerte celular resulta de la acumulación de eventos que tomados individualmente (Sociedad argentina de radio protección, 2015).
- son incapaces de generar muerte celular pero que adicionados son letales (modelo balístico). lesiones que aisladas devienen reparables, son irreparables cuando los

mecanismos de reparación son saturados (modelos basados en la reparación celular) (Sociedad argentina de radio protección, 2015).

Las curvas de supervivencia presentan grandes diferencias según las especies en juego. Las diferencias de radio sensibilidad quedan evidenciadas comparando las distintas curvas, tanto de especies diferentes como de sistemas diferentes (Sociedad argentina de radio protección, 2015).

Es necesario recordar que las células eucariotes son más radiosensibles que las procariotes, al tiempo que las células con mayor grado de diferenciación son más radio-resistentes que las células menos diferenciadas (Sociedad argentina de radio protección, 2015).

Entre las líneas celulares más radio sensibles encontramos las células totipotenciales del sistema hematopoyético y las células fuente de líneas germinales como las espermatogonias (Sociedad argentina de radio protección, 2015).

La diferencia de formas de las curvas de según el tipo de células, es el fundamento del efecto diferencial ligado al fraccionamiento de las dosis (Sociedad argentina de radio protección, 2015).

Las células son más sensitivas:

- Si son mitóticamente activas.
- Si aún no están comprometidas en una vía de diferenciación (Sociedad argentina de radio protección, 2015).

2.7 MODELO LINEAL CUADRÁTICO.

El modelo más aceptado desde los últimos quince años es el denominado modelo lineal cuadrático. Este modelo presupone que la célula muere como consecuencia de dos posibilidades: (Horas, Olgúin, & Rizzotto, 2005)

1) que el daño celular sea irreparable y 2) que se produzca un daño reparable por la célula. En función de ello, la curva de supervivencia viene determinada por dos componentes; uno linealmente proporcional a la dosis de radiación, relacionado con el daño irreparable (daño letal), y otro proporcional al cuadrado de la dosis, relacionado con el daño reparable (daño subletal). Según este modelo, la fracción superviviente es igual a: (Horas, Olgúin, & Rizzotto, 2005).

$$S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)} \quad (2.1)$$

Donde αD es el término lineal, proporcional a la dosis, y βD^2 el término cuadrático, proporcional al cuadrado de la dosis; por esto el modelo recibe el nombre de lineal-

cuadrático. Cuando el término lineal iguala al cuadrático, es decir, cuando la proporción de daños reparable e irreparable se iguala, el modelo puede expresarse como sigue: (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005)

$$\alpha D = \beta D^2 \leftrightarrow \alpha/\beta = D^2 / D = D \quad (2.2)$$

Es decir, que el cociente α/β (también llamado cociente de efectividad) es igual al valor de la dosis a la que los daños reparable e irreparable se hacen iguales. Una gráfica muy incurvada tendrá un pequeño α/β , mientras que una gráfica aplanada lo tendrá grande (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).

El modelo de supervivencia celular lineal cuadrático presenta las ventajas de una relativa simplicidad matemática y un buen ajuste a los datos observados en el rango de 2 Gy a 8 Gy (Salud al día cáncer radioterapia, 2015).

Pero su principal ventaja reside en que el cociente α/β puede calcularse experimentalmente y la respuesta de los tejidos puede predecirse con este parámetro, aún sin conocer los valores absolutos de los coeficientes, lo que ha permitido clasificar las células del organismo en: (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).

- Aquellas de cociente de efectividad (α/β) alto, que corresponden a las que tienen una velocidad de recambio elevada y escasa capacidad de reparación (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).
- Aquellas de cociente de efectividad bajo, que corresponden a las células más diferenciadas, de recambio lento, y que toleran mejor la irradiación mediante fracciones bajas, debido a una notable capacidad para reparar el daño subletal (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).

Los efectos tóxicos agudos son consecuencia de la depleción de células de recambio rápido, lo que se corresponde con una vida media corta y por tanto una gran rapidez en la aparición de la clínica (tiempo de latencia escaso) (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).

En el otro extremo, los efectos crónicos son debidos a la depleción de células de recambio lento y vida media larga, y por lo tanto, sus alteraciones se expresan con un tiempo de latencia prolongado. La relación α/β tiene extraordinaria importancia en radioterapia. Los efectos agudos del tratamiento presentan valores una relación α/β grande, mientras que los tardíos la presentan pequeña (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).

La mayoría de los tumores presentan una relación α/β semejante a las de los efectos agudos y fraccionamiento de dosis, en los inicios de la radioterapia, se hizo evidente que administrar una sola fracción (dosis única) para el tratamiento del cáncer era sumamente ineficaz, por no decir imposible, por lo que la radioterapia clínica tomó dos directrices principalmente: (Horas, Olguín, & Rizzotto, 2005).

1) Protraer o diluir la dosis en el tiempo, aplicando baja tasa de dosis. Este es el principio básico de la braquiterapia (Horas, Olgúin, & Rizzotto, 2005).

2) Fraccionar la irradiación, dividiendo la dosis total en diversas fracciones diarias, lo que constituye el principio básico de tratamiento con radioterapia externa. La elección de estas dos modalidades responde a ciertas necesidades prácticas centradas en alcanzar una dosis tumor adecuada sin acercarse a complicaciones indeseables o incluso desastrosas (Horas, Olgúin, & Rizzotto, 2005).

2.8 FRACCIONAMIENTO E HIPOFRACCIONAMIENTO.

La radioterapia generalmente se administra por fracciones o sesiones de radiación diaria o semanal de muy numerosas condiciones para los variedad tratamientos y los diferentes tumores a tratar (Biocancer research journal, 2015).

La aplicación de radioterapia en pacientes se ha valido de múltiples investigaciones y ensayos para ser la más favorable y cómoda opción de tratamiento; con todos las experimentaciones y esfuerzos realizados se han propuesto teorías que permitan tomar las mejores decisiones de tratamiento, es por ello que el estudio y desarrollo de la administración de las dosis se han convertido en un tema controversial y de muchos campos de exploración, destacando la importancia clínica de las observaciones que se hagan en cuanto a hipofraccionamiento como una opción favorable de tratamiento (Biocancer research journal, 2015).

La dosis total, la dosis por fracción y el tiempo entre fracciones, así como el tiempo total del tratamiento son factores muy importantes a tener en cuenta para valorar la eficacia del mismo o, lo que es lo mismo, la fracción de células supervivientes que permanecen activas al finalizar el mismo. Intentando explorar esas diferencias cualitativas, se han introducido en la práctica clínica diferentes pautas de fraccionamiento, variando dichos parámetros (Biocancer research journal, 2015).

En el desarrollo de los distintos tratamientos el fraccionamiento convencional ha sido el más aceptado y utilizado, pero también se han descrito avances en otros tipos de fraccionamiento por definición el fraccionamiento convencionales está dado por 180-200 Gy/día en una única fracción, 5 días/semana, es el que consigue un mejor índice terapéutico en la mayoría de los tumores. Dosis totales de 50 a 70 Gy en 5 a 8 semanas (Biocancer research journal, 2015).

El hipofraccionamiento de 300, 400, 500 Gy/día x 2 a 10 días. Se utiliza en algunos tumores específicos, como el melanoma. Donde más frecuentemente se utiliza es en tratamientos paliativos donde, debido a la corta supervivencia esperada, o a la urgencia del caso, se necesita conseguir una destrucción tumoral muy rápida, sin importar tanto los

efectos secundarios tardíos, que aparecen en mayor medida con este tipo de fraccionamiento (Biocancer research journal, 2015).

2.8.1 Importancia clínica de ensayos de hipofraccionamiento.

Las investigaciones clínicas que han realizado varios autores a lo largo del tiempo para mejorar y plantear nuevas estrategias de tratamientos con ayuda de experimentaciones in vitro en curvas de supervivencia celular, han significado una importancia clínica en el desarrollo del hipofraccionamiento que han demostrado mejores resultados clínicos entre los cuales se encuentran tumores de mama, cabeza, cuello y próstata como primeros ejemplos de a la luz de este fraccionamiento.

Se puede encontrar varios ensayos de utilidad clínica realizando un acercamiento al mejoramiento de este tratamiento en donde la importancia de las curvas de supervivencia celular y los ajustes matemáticos para el análisis de las mismas permite acercamiento al manejo de estas dosis en hipo fraccionamiento; entre ellos tenemos:

1. "Radioterapia estereotáctica hipofraccionada exacta de la próstata (sharp), 33,5 Gy en cinco fracciones para enfermedad localizada: primeros resultados del ensayo clínico" (Stereotactic hypofractionated accurate radiotherapy of the prostate (sharp), 33.5 Gy in five fractions for localized disease: first clinical trial results). Evaluación de la viabilidad y la toxicidad de la radioterapia estereotáctica hipofraccionado precisa (SHARP) para el cáncer de próstata localizado

Un ensayo de fase II de (SHARP) para el cáncer de próstata localizado utilizando 33,5 Gy en 5 fracciones calculados biológicamente equivalente a 78 Gy en fracciones de 2 Gy en campos de conformación no coplanares y todos los días de localización estereotáctica fueron utilizados para tratamiento genitourinario (GU) y la toxicidad gastrointestinal (GI) fueron evaluados por la Asociación Americana de Urología (AUA) puntuación y criterios comunes de toxicidad (CTC). Los valores de antígeno (PSA) específico de la próstata y la función sexual declarada se registraron a intervalos de seguimiento especificados. El estudio incluye 40 pacientes. La mediana de seguimiento es de 41 meses (rango, 21- 60 meses). La toxicidad aguda de grado 1-2 fue de 48,5% (GU) y 39% (GI); Al final el grado de toxicidad de grado 1-2 fue 45% (GU) y 37% (GI). No se informó de finales de grado 3 o mayor toxicidad. (Madsen B, 2007).

Veintiséis pacientes informaron de impotencia antes de la terapia; 6 (23%) han desarrollado impotencia, la mediana del tiempo hasta el nadir de PSA fue de 18 meses con la mayoría de los nadires de menos de 1.0 ng / mL. La actuarial de 48 meses a partir de la libertad bioquímica recaída es del 70% para la Sociedad Americana de Radiología Terapéutica y Oncología definición y el 90% en la alternativa nadir + 2 ng / ml definición de falla. En conclusión en este ensayo clínico (SHARP) para el cáncer de próstata

localizado llegaría a ser posible con los resultados de la toxicidad aguda o tardía mínima el escalado de dosis debería ser posible (Madsen B, 2007).

2. "Los primeros resultados de la prueba aleatorias en el reino unido de radioterapia de hipofraccionamiento acelerado para el tratamiento de cáncer de mama precoz (CRUK / 04/015) " (First results of the randomised UK FAST Trial of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer (CRUK/04/015)) (Yarnold, 2011)

Los ensayos aleatorios de prueba de 15 ó 16 fracciones regímenes de radioterapia adyuvante en mujeres con cáncer de mama temprano han reportado resultados favorables en comparación con el fraccionamiento estándar. Para evaluar hipofraccionamiento por semana se determinó en un régimen de 25 -fracciones (Yarnold, 2011).

Las mujeres escogidas para este ensayo son mayores 50 años con cáncer de mama precoz fueron escogidas aleatoriamente después de la resección completa del tumor a 50 Gy en 25 fracciones frente a 28,5 o 30 Gy en 5 fracciones una vez por semana de 5,7 o 6,0 Gy, respectivamente, en toda la mama. El criterio de valoración principal fue el cambio de 2 años en la apariencia de ecografía mamaria. Novecientos quince mujeres fueron reclutadas entre 2004 y 2007.

Setecientos veintinueve pacientes tenían evaluaciones fotográficas de 2 años. Las razones de riesgo para el cambio leve / marcadas fueron 1,70 (95% 1.26 a 2.29, $p < 0,001$) para los 30 Gy y 1,15 (0,82 - 1,60; $p = 0,489$) en comparación con el 28,5 Gy versus 50 Gy. Las tasas de tres años de duración de los efectos marcados médico-evaluaron moderados / adversos mama fue de 17,3% (13,3 a 22,3%, $p < 0,001$) para los 30 Gy y 11,1% (7,9 a 15,6%, $p = 0,18$) 28,5 Gy en comparación con 9,5% (6,5-13,7%) después de 50 Gy. (Yarnold, 2011)

Con una mediana de seguimiento de 37,3 meses sobrevivientes, se han producido 2 recaídas tumorales locales y 23 muertes. A los 3 años de seguimiento medio de 28,5 Gy en 5 fracciones es comparable a 50 Gy en 25 fracciones, y significativamente más suave que 30 Gy en 5 fracciones, en términos de efectos adversos en mama (Yarnold, 2011).

Estos entre otros ensayos clínicos hacen parte de la extensa investigación e importancia científica del estudio de la supervivencia celular en tumores que pueden determinar el avance del hipofraccionamiento y acercándose a los resultados in vitro respecto a la realidad.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En este capítulo se muestran dos modelos matemáticos en función de tres líneas celulares in vitro, usadas experimentalmente en estudios de supervivencia celular a diferentes dosis, evaluando la efectividad de uno de los modelos predictivos.

3.1 MODELO LINEAL CUADRÁTICO

El modelo más aceptado en dosimetría (Balart, 2001) y que ha sido herramienta a nivel clínico se fundamenta en:

Ecuación del modelo lineal cuadrático:

$$P \text{ supervivencia} = SF = \exp(-\alpha D - \beta D^2) \quad (3.1)$$

Donde αD es el término lineal, proporcional a la dosis, y βD^2 el término cuadrático, proporcional al cuadrado de la dosis.

Los valores α y β son constantes y están dados por cada línea celular de manera independiente. (Balart, 2001)

Ecuación del modelo cubico.

$$P \text{ supervivencia} = SF = \exp(-\alpha D - \beta D^2 + \gamma D^3). \quad (3.2)$$

En donde $\gamma = \beta / (3DL)$

Para el valor de DL se indicaron valores respecto al comportamiento lineal de la gráfica respecto a altas dosis.

3.2 DESARROLLO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

En el desarrollo experimental se utilizaron tres tipos de líneas celulares como lo son: Melanoma (FON), mama (T47D) y cuello uterino (HeLa); con el fin de evaluar cualitativamente según los datos tomados de la literatura, para análisis tanto lineal cuadrático como cubico de tumores con características diferenciadas respecto a su respuesta a la exposición a radiaciones ionizantes.

La célula de melanoma fue irradiada a través de intervalos de tiempo con una dosis incremental de 0 a 13 Gy, obteniendo una variación de muerte celular de 16.5% a través de la dosis. Los datos de α/β fueron referidos respecto a la respuesta de la célula a la radiación.

Tabla 2. Datos línea celular melanoma (Aballay, 2011)

| LINEA CELULAR FON | |
|-------------------|---------|
| Dosis (GY) | SF |
| 0 | 1 |
| 2 | 0,59 |
| 5 | 0,2 |
| 8 | 0,034 |
| 10 | 0,00339 |
| 13 | 0,0005 |

$\alpha = 0.20$

$\beta = 0.029$

$\alpha/\beta = 6.8$

$DL = 10$

La línea celular de mama que se utilizó se irradia en un rango de 0 – 10 Gy de forma incremental, en intervalos de tiempo en donde se tiene aproximadamente una muerte celular de 20%, los datos α/β se asumieron respecto a la radiosensibilidad propia de la línea.

Tabla 3. Datos línea celular mama (Meca, 2016)

| LINEA CELULAR T47D | |
|--------------------|--------|
| Dosis (GY) | SF |
| 0 | 1 |
| 1 | 0,79 |
| 2 | 0,56 |
| 5 | 0,17 |
| 8 | 0,019 |
| 10 | 0,0038 |

$\alpha = 0.1$

$\beta = 0.05$

$\alpha/\beta = 2$

$\gamma = \beta/3DL$

$DL = 8$

Para la línea celular de cuello uterino se fundamenta de los datos experimentales α/β , obtenidos por (Quintero, 2012), cuya irradiación celular se trabajó en un intervalo de dosis de 0 a 10 Gy, con una variación de muerte celular cercano al 14.3%.

Tabla 4 Datos línea celular cuellos uterino (Quintero, 2012).

| LINEA CELULAR HELA | |
|--------------------|------|
| Dosis (GY) | SF |
| 0 | 1 |
| 1 | 0,94 |
| 2 | 0,76 |
| 4 | 0,42 |
| 6 | 0,28 |
| 8 | 0,08 |
| 10 | 0,06 |

$$\alpha = 0.159497$$

$$\beta = 0.0335798$$

$$\alpha/\beta = 4.8$$

$$DL = 8$$

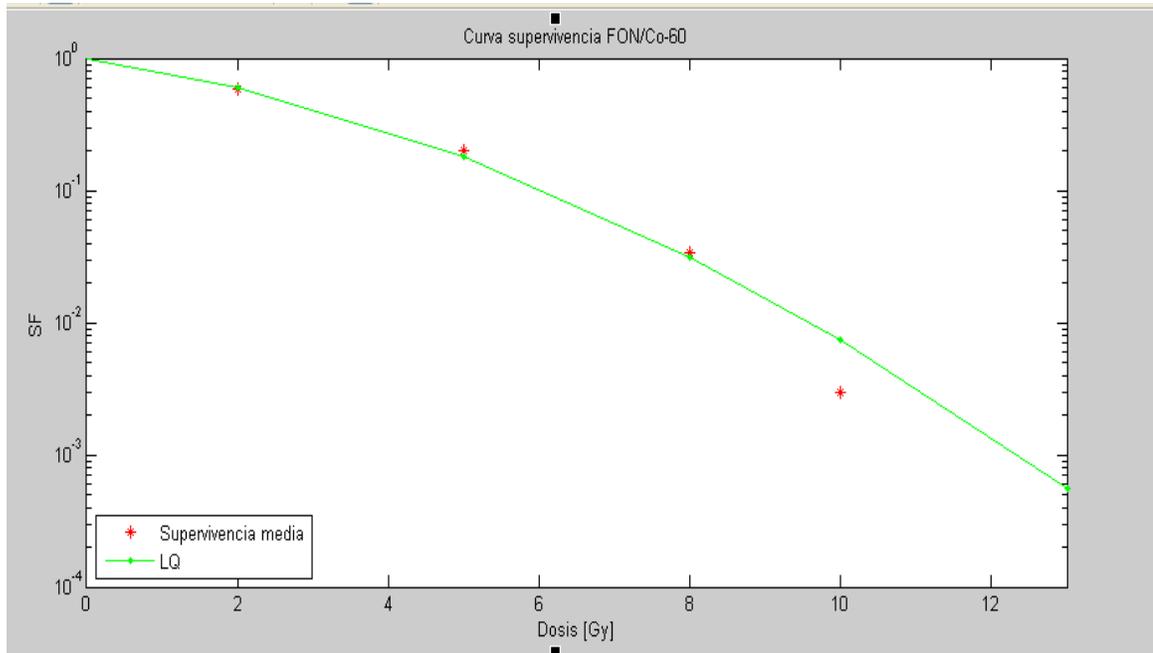
3.3 IMPLEMENTACIÓN NUMÉRICA.

Los datos α/β empleados en el modelado de las curvas, se determinaron de acuerdo a la literatura utilizada, los valores D se asignaron de manera incremental en la ecuación programada en matlab según (tablas 2, 3,4) para el modelo cuadrático, a su vez la variación del modelo cubico el termino DL se estableció de acuerdo a la premisa de cada grafica donde se hacía más lineal a altas dosis.

3.3.1 Implementación del Modelo lineal cuadrático.

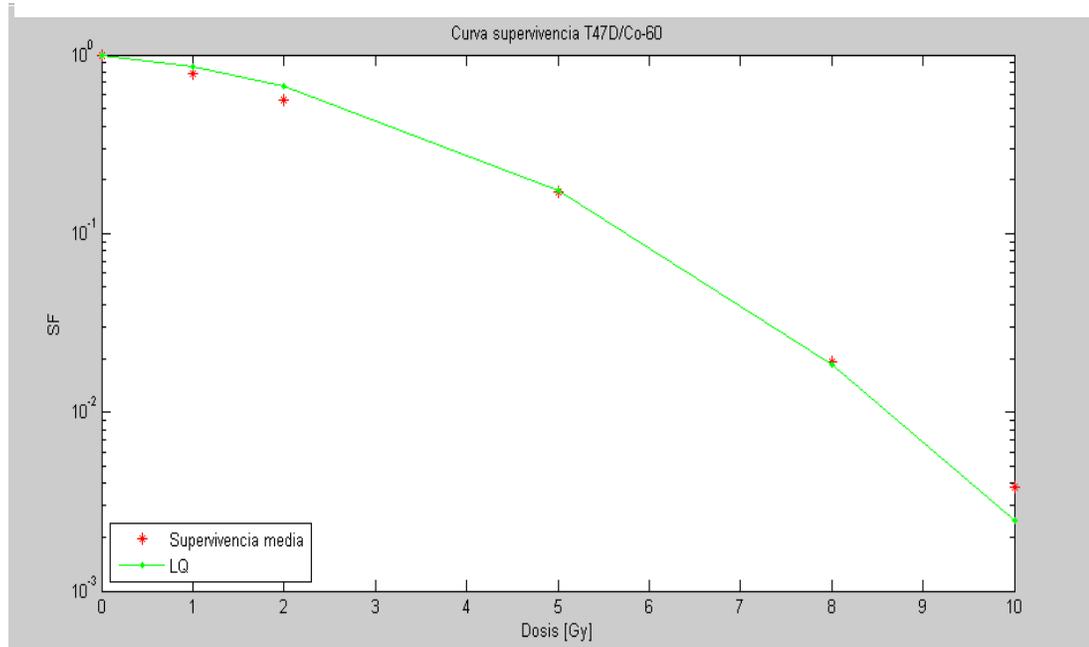
En la figura 5 se puede observar la curva de supervivencia celular de una línea de melanoma en la coordenada Y, con la variación de dosis aplicada en la axisa X, evidenciando un hombro de supervivencia aproximada en 10^0 a 10^{-1} (SF), a una dosis de 5 Gy. Allí se puede observar un aumento de muerte celular directamente proporcional y significativa a la dosis aplicada.

Figura 5 Curva de supervivencia modelo lineal cuadrático línea Fon.



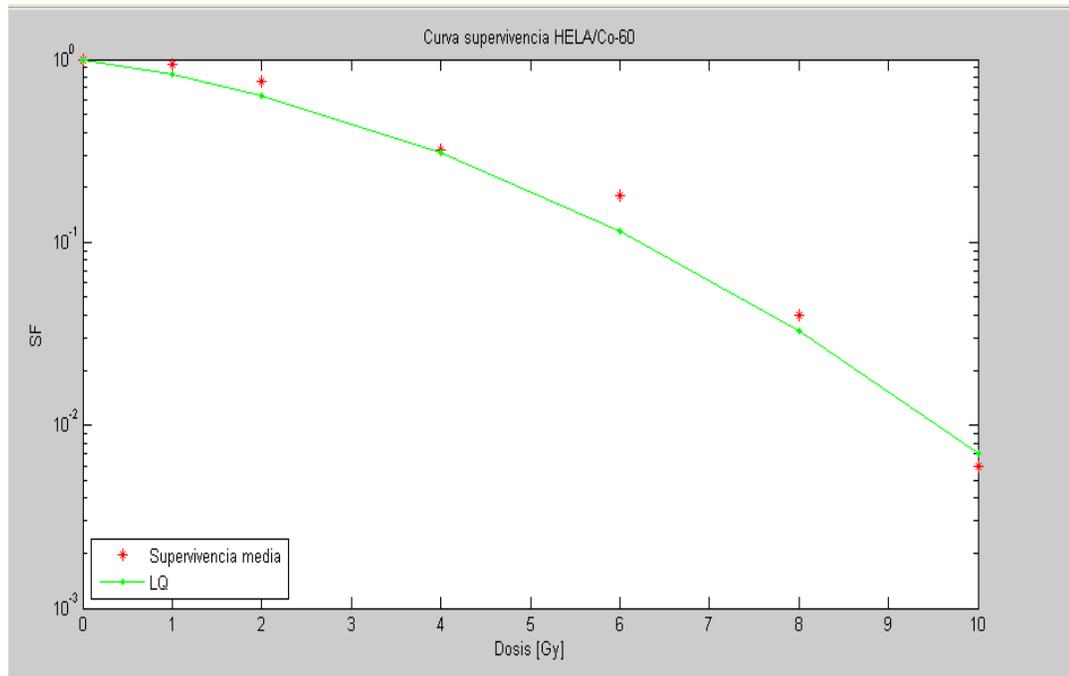
En la figura 6 se aprecia un hombro de supervivencia que se encuentra en los rangos de 10^0 a $1,7 \times 10^{-1}$ (SF) en la coordenada Y, en donde ya inicia una caída significativa respecto al aumento de las dosis en la axisa X, más allá de los 5 Gy la muerte es proporcional al aumento de la misma.

Figura 6 Curva de supervivencia modelo lineal cuadrático línea T47D.



En el modelado representado en la Figura 7 de la línea celular HeLa, se evidencia un hombro de supervivencia en la coordenada Y de 10^0 a $3,0 \times 10^{-1}$ (SF), en donde alrededor de los 4 Gy (axisa X), la muerte celular incrementa conforme lo hace la irradiación aumenta.

Figura 7 Curva de supervivencia modelo lineal cuadrático línea HeLa.

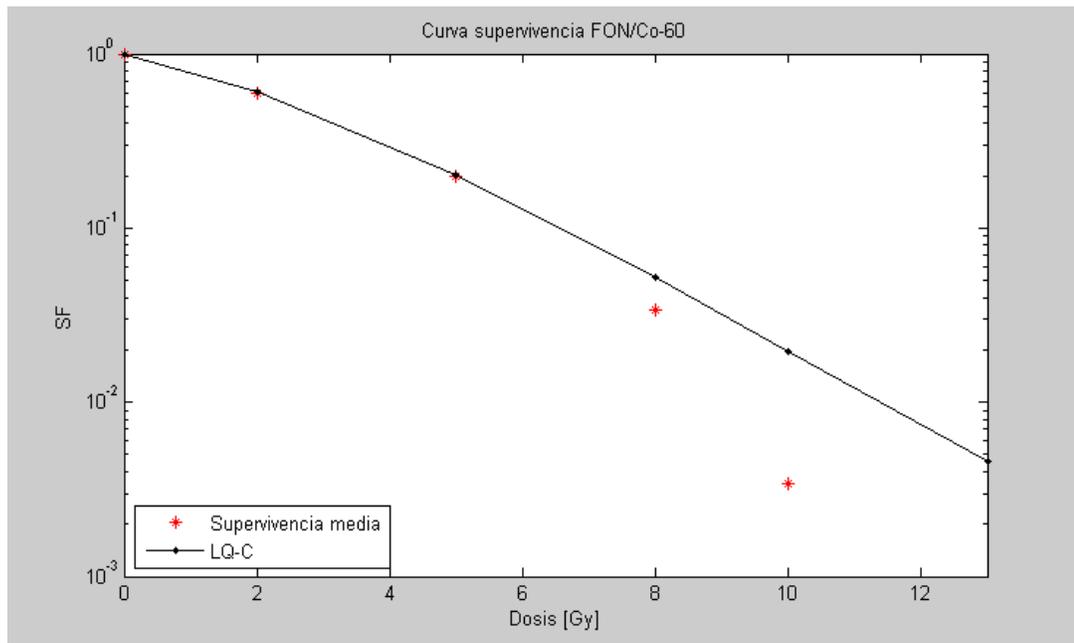


En las curvas obtenidas con el ajuste cuadrático indican una buena descripción de supervivencia a bajas dosis entre 4 – 5 Gy, lo que comprueba las teorías de su uso en fraccionamientos convencionales, pero al aumentar la dosis la muerte celular se incrementa de manera acelerada, llevando la curva a un comportamiento lineal.

3.3.2 Implementación Modelo lineal cúbico

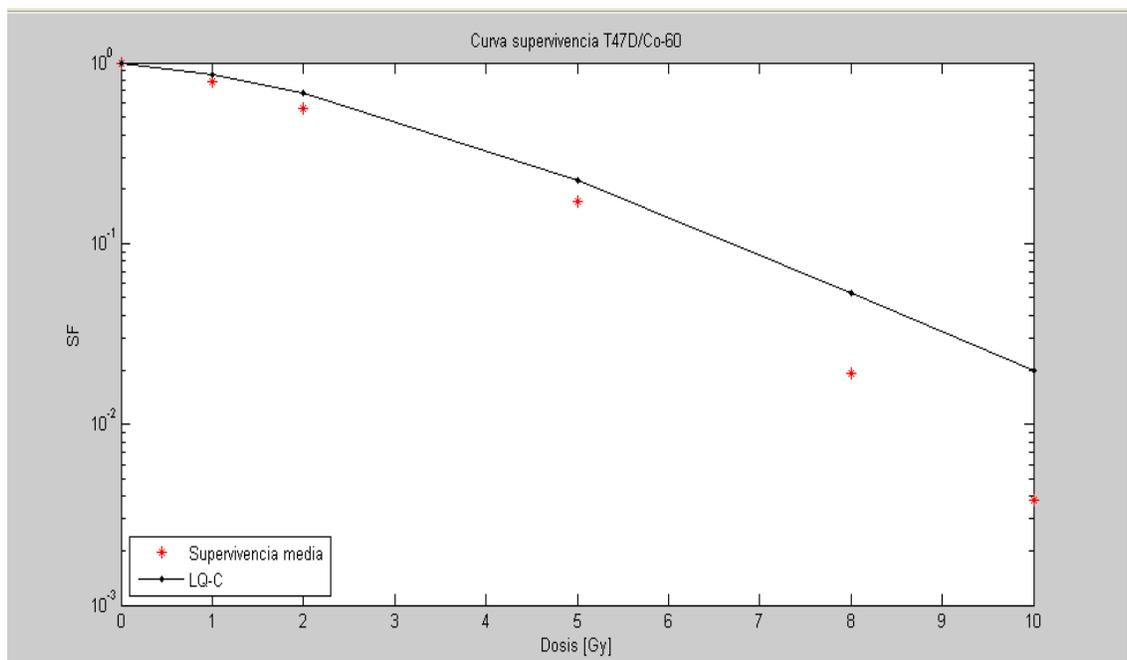
En la figura 8 se observa la implementación del modelo lineal cubico ecuación (3.2) de la línea celular de melanoma, con un hombro de supervivencia en la coordenada Y , de 10^0 a $1,2 \times 10^{-1}$ (SF), en donde alrededor de los 5 Gy (axisa X), la muerte celular incrementa conforme lo hace la radiación.

Figura 8 Curva de supervivencia modelo lineal cubico línea Fon.



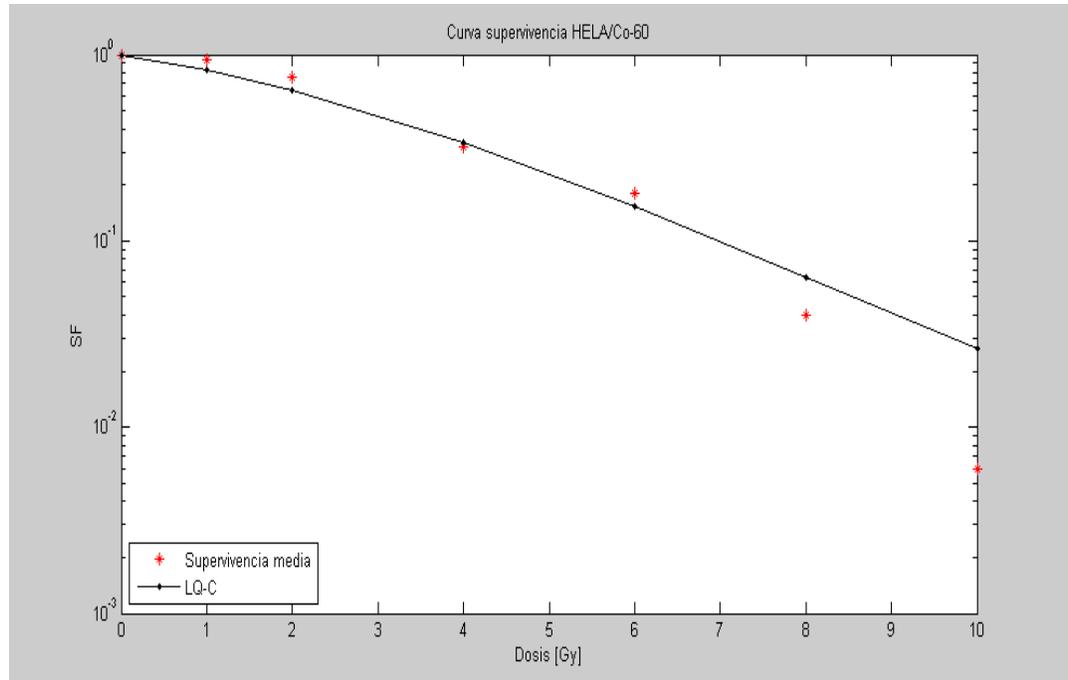
En la figura 9 se aprecia un hombro de supervivencia celular que se encuentra en los rangos de 10^0 a $2,2 \times 10^{-1}$ (SF) en la coordenada Y, en donde ya inicia una caída significativa respecto al aumento de las dosis en la axisa X, más allá de los 5 Gy la muerte es proporcional al aumento de la misma de la línea celular de mama.

Figura 9 Curva de supervivencia modelo lineal cubico línea T47D.



En la figura 10 se puede observar la curva de supervivencia celular de una línea de cuello uterino en la coordenada Y, con la variación de dosis aplicada en la axisa X, evidenciando un hombro de supervivencia aproximada en 10^0 a $3,3 \times 10^{-1}$ (SF) a una dosis de 5 Gy, allí se puede observar un aumento de muerte celular directamente proporcional y significativa a la dosis aplicada.

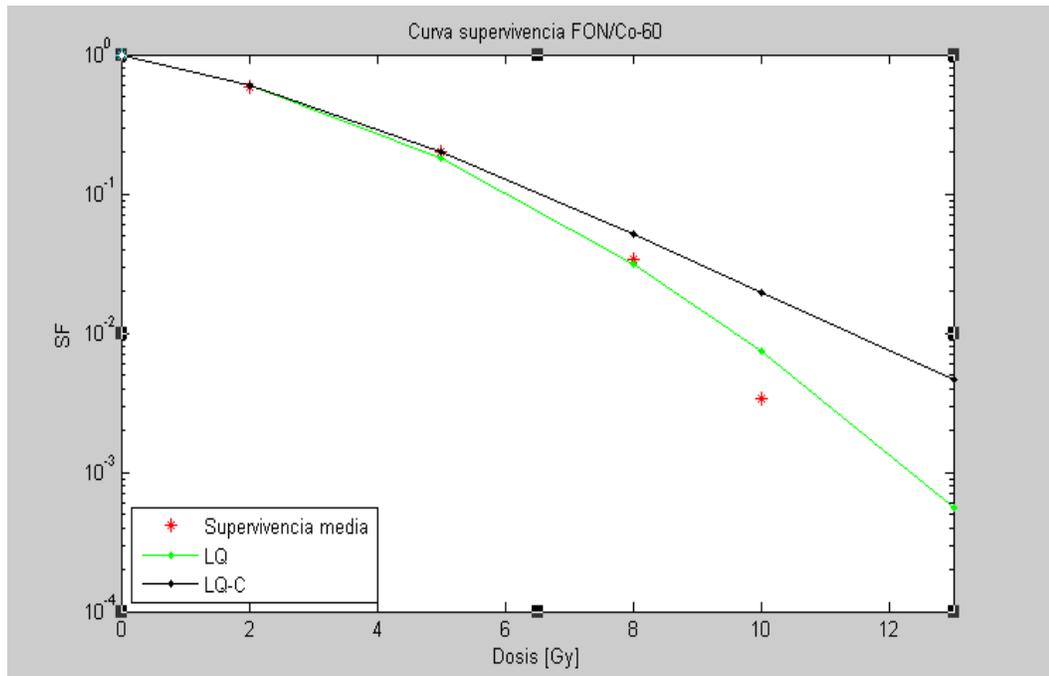
Figura 10 Curva de supervivencia modelo lineal cubico línea HeLa.



3.3.3 Comparación de los modelos.

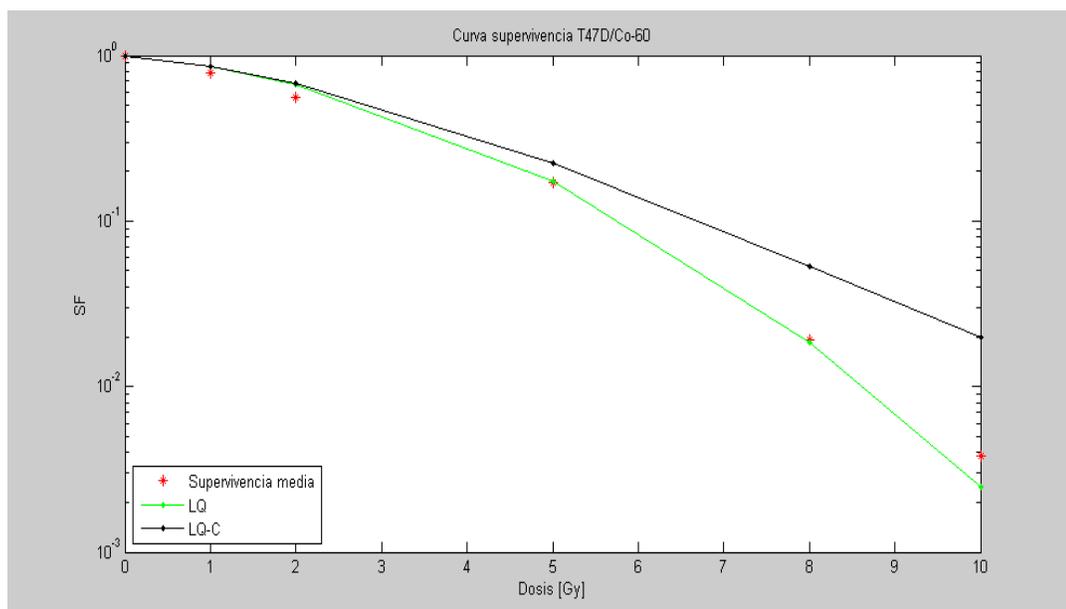
Al comparar los modelos cuadrático y cúbico, en la línea celular de melanoma como se muestra en la Figura 11, se puede visualizar un aumento gradual de la supervivencia en función del modelo cuadrático, este cambio se puede describir a partir de los 8 Gy con una variación de supervivencia del modelo cúbico de 3.8×10^{-3} (SF) y en 13 Gy con una diferencia de 4.6×10^{-5} (SF).

Figura 11 Comparación de curvas de supervivencia modelo lineal cuadrático y cubico línea Fon.



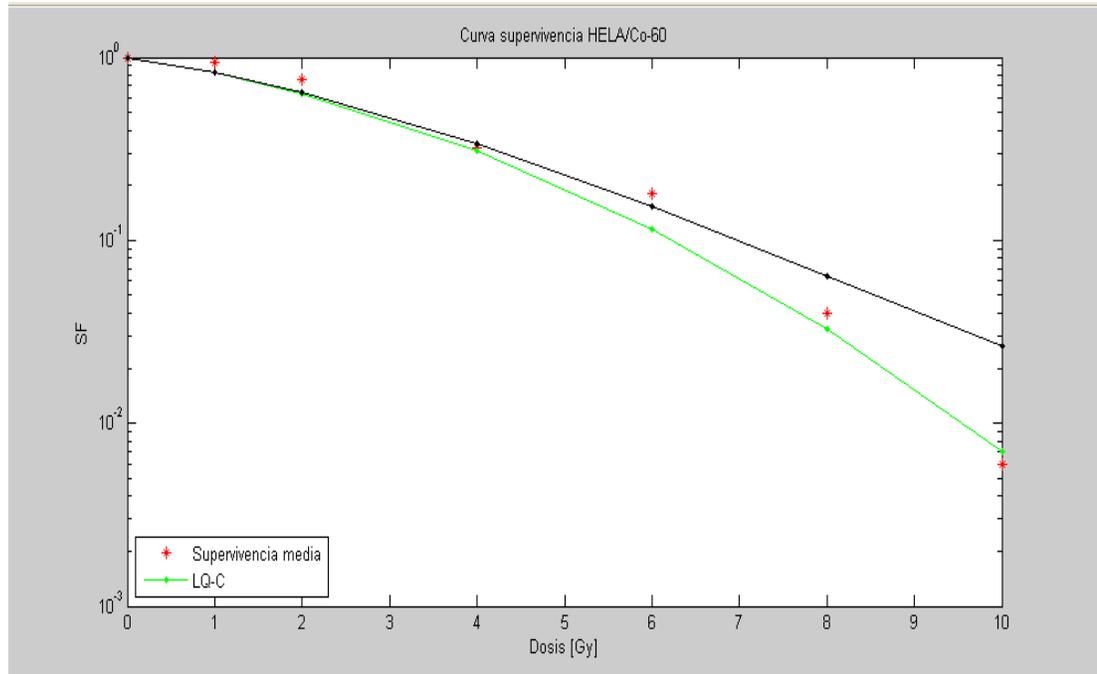
Comparando la línea celular de mama de los modelos (ver figura 12), la diferencia se destaca a partir de los 2 Gy acentuándose una mayor diferenciación cerca a los 8 Gy, con divergencia de supervivencia celular de 0.51×10^{-3} (SF) y a un aumento de dosis (10 Gy) se evidencio un cambio de 1.6×10^{-2} (SF) lo que valida un mejor comportamiento del modelo cúbico en altas dosis.

Figura 12 Comparación de curvas de supervivencia modelos lineal cuadrático y cubico línea T47D.



En la línea celular HeLa la correlación de los ajustes modelados lineal cuadrático y cúbico como se muestra en la figura 13, muestra una variación desde los 4 Gy con una muerte celular de $3,0 \times 10^{-1}$ (SF), incrementando en una dosis de 8 y 10 Gy a una supervivencia aproximada de $6,2 \times 10^{-2}$ y de $1,9 \times 10^{-2}$ (SF) respectivamente.

Figura 13 Comparación de curvas de supervivencia modelos lineal cuadrático y cubico línea HeLa



En la comparación de los modelos se puede confirmar que hay un mejor ajuste del modelo lineal cubico respecto al lineal cuadrático, por la supervivencia allí representada, aunque no se llega al punto ideal de supervivencia si se acerca al concepto de adecuar el modelo vigente para lograr mejores descripciones en dosis altas. También se puede identificar que la variación de supervivencia de las líneas celulares difiere entre las mismas, así mismo hay una mayor supervivencia en dosis de 8, 10 y 13 Gy para las líneas de mama y melanoma, en la línea de cuello uterino a pesar de visualizar el cambio es menor en proporción respecto a las otras dos líneas.

3.4 Gráficas de comparación.

Para lograr una mejor diferenciación de los cambios de los modelos se realizó un diagrama de barras obteniendo una representación gráfica más sencilla para su análisis.

Tabla 5 Datos resultantes línea Melanoma.

| LINEA CELULAR FON | | |
|-------------------|-------------|-------------|
| Dosis (GY) | SF - LQ | SF - cubica |
| 1 | 0,795328534 | 0,796097723 |
| 2 | 0,596903393 | 0,60153734 |
| 5 | 0,178173052 | 0,201057033 |
| 8 | 0,031555733 | 0,051763673 |
| 10 | 0,007446583 | 0,019578303 |
| 13 | 0,000552532 | 0,004620588 |

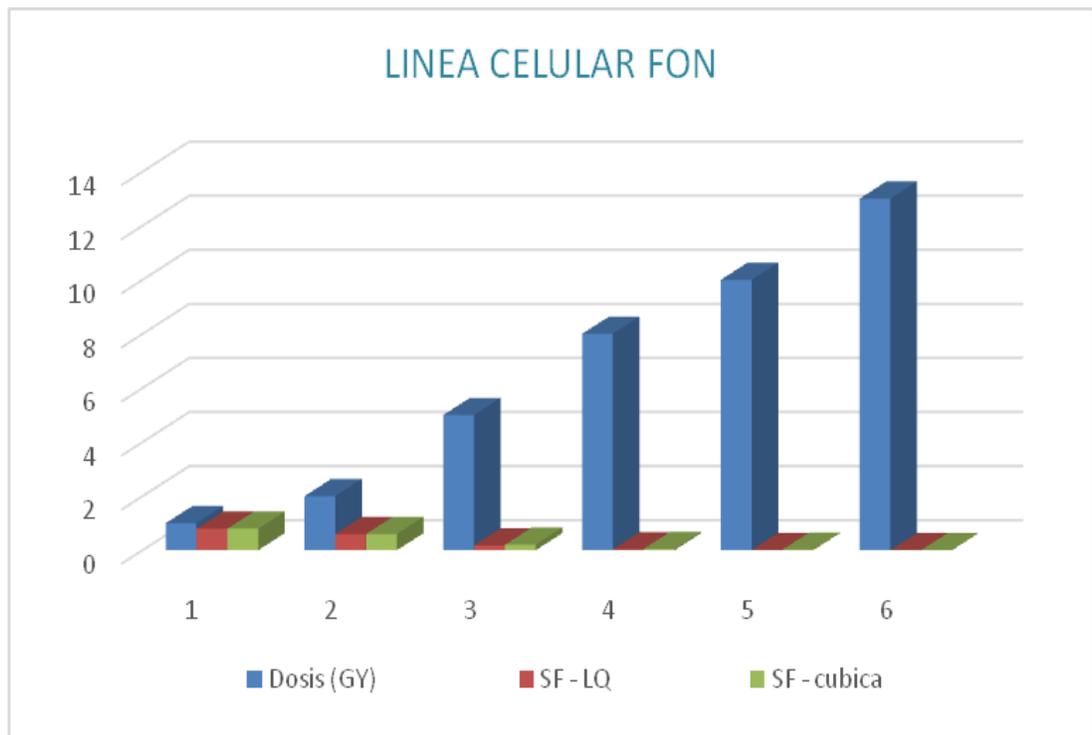
Figura 14 Representación de datos Melanoma

Tabla 6 Datos resultantes línea mama.

| LINEA CELULAR T47D | | |
|--------------------|-------------|-------------|
| Dosis (GY) | SF - LQ | SF - cubica |
| 1 | 0,860707976 | 0,862502987 |
| 2 | 0,670320046 | 0,681585666 |
| 5 | 0,173773943 | 0,22546658 |
| 8 | 0,018315639 | 0,053219344 |
| 10 | 0,002478752 | 0,019907342 |
| 13 | 5,82947E-05 | 0,005668013 |

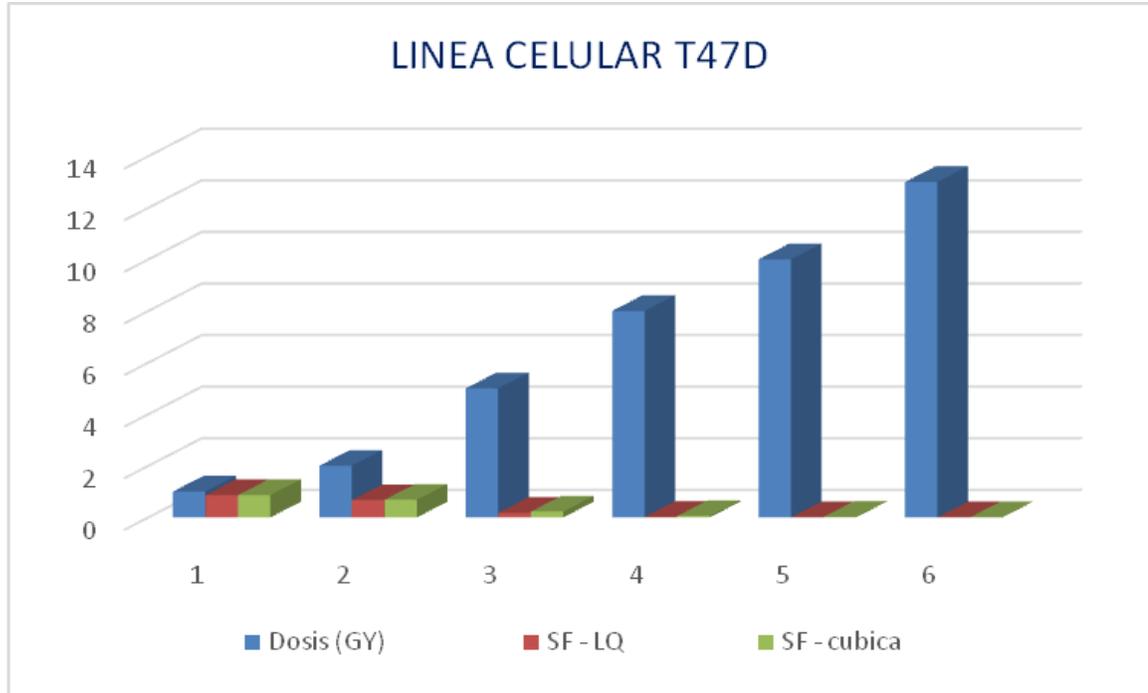
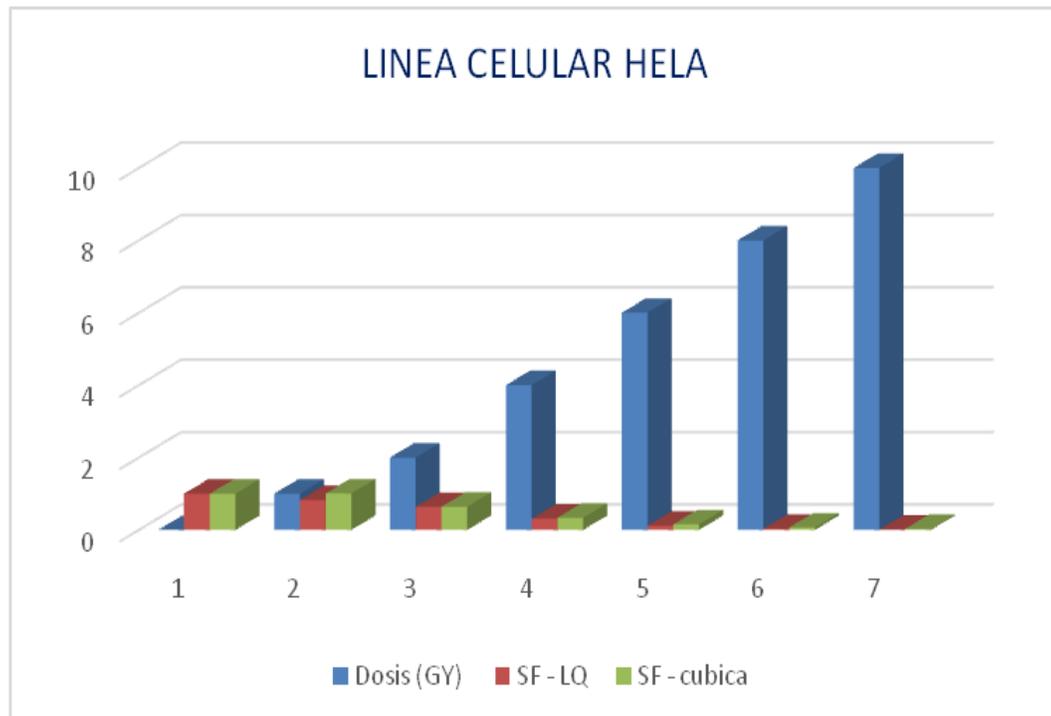
Figura 15 Representación de datos Mama

Tabla 7 Datos resultantes línea cuello uterino..

| LINEA CELULAR HELA | | |
|--------------------|-------------|-------------|
| Dosis (GY) | SF - LQ | SF - cubica |
| 0 | 1 | 1 |
| 1 | 0,824418656 | 1,006947221 |
| 2 | 0,635519058 | 0,642672553 |
| 4 | 0,308737215 | 0,337659034 |
| 6 | 0,114651888 | 0,155107539 |
| 8 | 0,032546573 | 0,066622419 |
| 10 | 0,007062544 | 0,028615932 |

Figura 16 Representación de datos cuello uterino.

A pesar de la ventaja que se logra determinar con el modelo Lineal cuadrático cubico hay consideraciones especiales que no están contenidas en este modelo, lo que podría contribuir en el mejoramiento de los modelos entre ellas se tendrían:

Tabla 8 Parámetros de importancia.

| Parámetro | Descripción |
|-----------------------------------|---|
| Línea Celular (Radiosensibilidad) | En sus variables es importante definir un término que describa el tiempo de radiación para poder determinar mejor la supervivencia que puede verse modificado por el cambio de radiosensibilidad en cada línea celular. |
| Tiempo de proliferación celular | El tiempo de proliferación de cada línea celular como termino independiente podría determinarnos la efectividad de las dosis aplicadas y podría aportar en el desarrollo de los ajustes |
| Oxígeno | Una de las variables no menos importante es el grado de oxigenación en la cual se encuentra el órgano a irradiar, que puede determinar la supervivencia celular. |
| Efectividad clínica | En este modelo se puede determinar un aumento de la supervivencia pero sigue siendo limitado para demostrar la efectividad del hipofraccionamiento |

4. CONCLUSIONES.

El modelo lineal cuadrático (LQ) presenta problemas de análisis a altas dosis, generalmente 5-6 Gy como lo ha descrito la bibliografía aquí referenciada, el modelo lineal cuadrático cubico (LQ-C) logra realizar un mejor ajuste como se puede evidenciar al comparar las dos curvas, realizando un acercamiento a los nuevos modelos planteados para el análisis de dosis mayores, que buscan optimizar los tratamientos radioterapéuticos.

Aunque el modelo LQ es el más utilizado y aceptado para cálculos de dosis, siempre se ha demostrado la necesidad de mejorar su implementación, en este trabajo se expone una de sus más sencillas variaciones adicionando un solo termino, que se denominó modelo LQ-C, sin embargo es solo un acercamiento que intenta validar la aceptación de nuevos modelos entre los cuales se pueden nombrar también LQ-L de Astraham o USC de Park.

La radiosensibilidad de cada línea celular depende en alto grado de factores biológicos propios de cada una, también con su relación α/β o su respuesta tardia a radiaciones ionizantes; además de las condiciones de cultivo in vitro que son de importante relevancia, pero esto no indica que sea un limitante a la hora de analizarlas con un nuevo modelo que mejore su estudio.

En este trabajo se ha podido diferenciar un cambio significativo entre LQ y LQ-C de las líneas celulares de melanoma y mama que en las observadas en cuello uterino en donde su relación de diferenciación no es muy significativa respecto a las otras dos sin embargo si existe un mejor ajuste con LQ-C.

Los resultados descritos respecto al uso de los modelos no invalidan de manera tacita el clásico LQ, por el contrario se sirve del mismo para optimizar su implementación como teoría base, pero determinan definitivamente la necesidad de perfeccionar este modelo, disminuir las limitantes y mejorar los tratamientos de fraccionamiento que actualmente se utilizan, además de variables que adicionalmente puedan contribuir a mejorar los modelos.

La eficacia de las experimentaciones in vitro son una herramienta indispensable de las cuales las disciplinas como la radiología oncológica y la física- medica se basan, para poder determinar el uso en radioterapia como tratamiento definitivo contra tumores, optimizar la calidad de los métodos otorga un aporte clínico muy importante ya que a partir del mismo se logran desarrollar teorías que permitan el avance de estas ciencias, a pesar de tratarse de pequeños pasos en el acercamiento a la realidad clínica, son de influencia, el solo hecho de acercarse a comparar dos sencillos métodos permite generar más interrogantes en el estudio del mejoramiento de estos modelos.

5. BIBLIOGRAFÍA.

1. Aballay , E. (2011). Modelización de curvas de sobrevida de líneas celulares neoplásicas. (Tesis de Grado). Buenos Aires Argentina.: Universidad de Favaloro.
2. Aka, J., & Lin, S. (2012). Comparison of Functional Proteomic Analyses of Human Breast Cancer Cell Lines T47D and MCF7. Journal pone.
3. Alegre , V. (s.f.). Melanoma. Recuperado el 12 de Julio de 2016, de <Http://www.uv.es/derma/CLindex/CLmelanoma/CLmelanoma.htm>.
4. Aranda Haro , M. (2003). Los esferoides multicelulares como test predictivo de radio sensibilidad y radiocurabilidad tumoral. (tesis de doctorado). Granada España.: Universidad de Granada.
5. Asociación de oncología radioterapia aragonesa. (s.f.). Asociación de oncología radioterapia aragonesa. Recuperado el 2015 de Octubre de 2015, de http://www.asorart.com/index.php/que_es_radioterapia
6. Astrahan, M. (2008). Some implications of linear-quadratic-linear radiation dose-response with regard to hypofractionation. *Medical Physics*, 35(9), 4161- 4172.
7. Balart , J. (2001). Análisis de la radio sensibilidad de las células tumorales pancreáticas humanas y su modulación por 5-fluorouracilo. (tesis de doctorado). Barcelona, España: Universidad Autónoma de Barcelona.
8. Biocancer research, j. (s.f.). www.biocancer.com. Recuperado el 12 de Octubre de 2015, de <http://www.biocancer.com>.
9. Brown , J., Carlson , D., & BrenneR, D. (2014). The tumor radiobiology of SRS and SBRT: are more than the 5 Rs involved? *Int J RadiatoncolBiolPhys*, 88, 254-262.
10. Cèlulas , T. (s.f.). Celeromics. Recuperado el 22 de Junio de 2016, de <http://www.celeromics.com/es/Soporte/cell-lines/mcf-7.php>
11. Celulas, H. (s.f.). Celeromics. Recuperado el 22 de Junio de 2016, de <http://www.celeromics.com/es/Soporte/cell-lines/HeLa.php>
12. Chacón, J., Serrada, A., & González, M. (1998). Principios de radioterapia. En *Oncología clínica*. 2ª ed. (págs. 329-339.). Madrid.: McGraw-Hill Interamericana.
13. Ciclo, c. (s.f.). Recuperado el 08 de Agosto de 2016, de http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias/Celular_Ciclo.html
14. De la Peña Fernández, L., & Martínez , M. (s.f.). Historia de la radiobiología. Recuperado el 12 de Octubre de 2015, de <http://www.encuentros.uma.es/encuentros72/radiobiologia.htm>
15. Fontes Neto , F. (2010). Papel de MVP en la reparación del ADN, la progresión tumoral y la hipoxia en carcinoma cervical: impacto pronóstico. (Tesis de doctorado). Canarias.: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

16. Fowler, J. (2008). Linear quadratics is alive and well: in regard to Park et al. . *Int J RadiatOncolBiolPhys*, 70, 847-852.
17. Garzón, O., Plazas, M., & Salazar, E. (2014). Evolución de los modelos fisicomatemáticos en radiobiología y sus aplicaciones en terapias de radiación ionizada. *TECCIENCIA*, 9(17), 15-22.
18. Guirado, D. (2012). Variabilidad en radiobiología (Tesis de doctorado). España.: Universidad de Granada.
19. Hernández , M., & Ruiz , A. (2003). Avances en cuidados paliativos. En *Radioterapia paliativa* (págs. 229-255.). Las Palmas: Gafos.
20. Horas , J., Olgúin, O., & Rizzotto, M. (2005). Celulas clonogenicas y probabilidad de cura tumoral (TCP). *Universidad Nacional de San Luis*, 17, 333- 335.
21. Iwamoto , R. (1999). Radioterapia. En *Enfermería oncológica*. 3ª ed (págs. 512-538.). Madrid: Harcourt Brace.
22. Joiner, M., & Kogerl, A. (2009). *Basic clinical radiologi*. Londres, Gran Bretaña: Midex sources.
23. La , c. (s.f.). Monografias. Recuperado el 10 de Agosto de 2016, de <http://www.monografias.com/trabajos/celula/celula.shtml>.
24. Lehnert, S. (2008). *Biomolecular Action of Ionizing Radiation, Methods of Cell and Molecular Radiobiology*. Montreal: Taylor & Francis.
25. Madsen , B., Hsi , A., & Huong, T. (2007). Stereotactic hypofractionated accurate radiotherapy of the prostate (sharp), 33.5 gy in five fractions for localized disease: first clinical trial results. *Int. J. Radiation Oncology Biol*, 67(4), 1099–1105.
26. Meca, E. (25 de Julio de 2016). comunicación personal. Buenos Aires .
27. Michelin , S., Gallegos , C., Dubner, D., & Baffa Trasci , S. (2010). La molécula hla-g: indicador de radiosensibilidad de una linea celular de melanoma humano. Congreso Regional de Seguridad Radiológica y Nuclear. Medellin Colombia.
28. Negrín , L. (2015). Estudió de potenciales marcadores moleculares predictivos de radio sensibilidad en cáncer de piel tipo melanoma. (Tesis de maestría). Argentina: Universidad Nacional de Cuyo.
29. Park , C., Papiez , L., Zhang, & Story , M. (2008). Timmerman R. universal survival curve and single fraction equivalent dose: useful tools in understanding potency of ablative radiotherapy. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 70(3), 847–852.
30. Preston , R. (2005). Radiation biology: concepts for radiation protection. *Health Phys.*, 88, 545-56.

31. Quintero , P. (2012). Estudio in vitro de la supervivencia en células tumorales irradiadas con un acelerador lineal de uso clínico (tesis de maestría). Bogotá, Colombia.: Universidad Nacional de Colombia.
32. Salud al día cáncer radioterapia. (s.f.). Web consultas. Recuperado el 12 de Octubre de 2015, de <http://www.webconsultas.com/salud-al-dia/cancer/radioterapia-6775>
33. Sendra Portero , F. (2002). Radiobiología en braquiterapia de baja tasa de dosis. Radiobiología Revista electrónica., 2, 36-33.
34. Song , C., Park, H., Griffin RJ, R., & Levitt, S. (2012). Radiobiology of stereotactic radiosurgery and stereotactic body radiation therapy. Technical basis of radiation therapy, 51-61.
35. Valente , M., & Pérez , P. (2009). Dosimetría y radiobiología, Tecnicatura física médica (Notas de dosimetría y radiobiología). Buenos Aires. Argentina.: Universidad nacional de Catamarca.
36. Yarnold , J. (2011). First results of the randomised UK FAST Trial of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer (CRUKE/04/015). Radiother Oncol, 10, 1016.