

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN
Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental

**Autorradiografía Neutrónica para Determinar la
Distribución Espacial Cuantitativa de ^{10}B .**

Desarrollo y Aplicación a la Terapia por Captura Neutrónica.

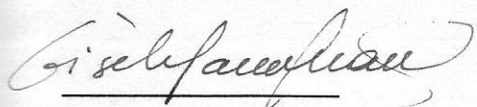
Autora: Agustina M. Portu

Dirección: Dra. Gisela Saint Martin y Dra. Sara J. Liberman

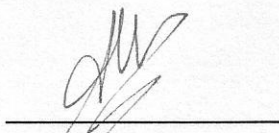
Lugar de trabajo: Comisión Nacional de Energía Atómica

Trabajo de Tesis para Optar por el Título de Doctora en Ciencia
y Tecnología, Mención Química

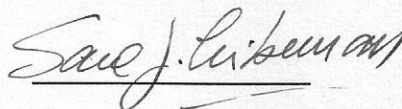
Febrero de 2012



Directora



Alumna



Codirectora

Resumen

Desde 1996, la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) lleva adelante el proyecto de "Terapia por Captura Neutrónica de Boro". El mismo se realiza principalmente en colaboración con el Instituto de Oncología Ángel H. Roffo y tiene como objetivo principal contribuir a mejorar el control local de patologías de difícil tratamiento con técnicas convencionales.

La Terapia por Captura Neutrónica de Boro (BNCT) es una modalidad binaria en la cual un compuesto rico en el isótopo ^{10}B se acumula en forma preferencial en células malignas. Luego de administrar dicho compuesto al paciente y cuando éste se ha distribuido, la región a tratar es irradiada con un flujo de neutrones térmicos. Dado que el ^{10}B tiene una alta sección eficaz para la reacción de captura neutrónica $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$, se emiten dos partículas de alta transferencia lineal de energía y corto rango en tejido ($\sim 10\ \mu\text{m}$). Así, se destruyen las células tumorales sin producir daño significativo en el tejido sano circundante.

Esta modalidad de tratamiento implica un trabajo interdisciplinario que involucra la interacción entre científicos especializados en química, física, biología, radioterapia clínica e ingeniería nuclear. A nivel internacional, BNCT ha sido aplicado principalmente en el tratamiento de tumores cerebrales malignos del tipo glioblastoma multiforme (GBM), melanomas y tumores de cabeza y cuello. Se ha extendido también a mesoteliomas malignos y metástasis hepáticas. En la Argentina se han tratado ocho pacientes BNCT con melanomas cutáneos en extremidades, cubriendo diez zonas. Actualmente se

están desarrollando estudios para concretar los tratamientos de metástasis hepáticas de cáncer de colon, tumores de la cavidad oral, cáncer de pulmón y cáncer indiferenciado de tiroides.

El éxito de esta terapia depende de muchos factores, entre los que se encuentra el conocimiento preciso de la localización espacial de ^{10}B en tumor y tejido sano. Se han utilizado diversas técnicas para la determinación de ^{10}B en forma global y local. Una de las más utilizadas para la determinación global de la concentración de boro en tumor, sangre y tejido sano es la Espectroscopía de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES). Por su sensibilidad, ha sido la técnica elegida para medir la concentración de ^{10}B en sangre en los tratamientos de melanoma y en los estudios de biodistribución realizados en metástasis hepáticas llevados a cabo hasta el momento en Argentina.

Pero dadas las características del tejido tumoral, que presenta una vasculatura caótica y regiones necróticas junto con las viables, el análisis de la distribución local del elemento emisor en los tejidos de interés es fundamental para el conocimiento de la captación de los compuestos borados. A nivel mundial, se han desarrollado diversas técnicas sofisticadas para el análisis localizado de ^{10}B a nivel celular, pero la complejidad de las mismas y los tiempos requeridos en la preparación, procesamiento y análisis de las muestras ha limitado su aplicación.

La Autorradiografía en Detectores de Trazas Nucleares de Estado Sólido (SSNTD) se ha desarrollado para varias aplicaciones y, en el marco de BNCT, ha sido utilizada por algunos grupos de investigación para obtener la biodistribución de boro al menos a nivel cualitativo. Es una metodología que involucra una cantidad considerable de trabajo manual, al igual que otras técnicas de localización espacial de ^{10}B .

En esta tesis se desarrollan los pasos para la puesta a punto de una metodología de determinación de ^{10}B , basado en la realización de

autorradiografías con SSNTD, para el estudio no sólo cualitativo sino también cuantitativo de la distribución espacial de ^{10}B en matrices biológicas, en particular tumor y tejido sano. Utilizando un material novedoso y desarrollando un sistema de calibración original, se muestra la posibilidad de establecer una metodología, aplicable en particular a muestras biológicas, que puede utilizarse en forma rápida y confiable, transformándose así en una opción para los estudios de biodistribución en investigaciones clínicas y preclínicas. Este sistema permite obtener resultados compatibles con los obtenidos por medio de mediciones de ICP-OES, lo que valida su utilización. La aplicación de ambas técnicas en forma conjunta en el marco del proyecto de BNCT en Argentina permitirá mejorar la planificación de los tratamientos y los cálculos de dosis recibida por los pacientes durante la terapia.

Con el objeto de presentar la metodología y los resultados en forma clara, esta tesis se ha estructurado de la siguiente manera: en los primeros dos capítulos, que forman la Sección I (Introducción) se desarrollan aquellos conceptos teóricos que serán de utilidad de aquí en adelante. Los fundamentos y estado actual de la Terapia por Captura Neutrónica de Boro son comentados en el **Capítulo 1**. En el **Capítulo 2** se mencionan las técnicas de detección más habituales y se presentan los fundamentos teóricos de la técnica de ICP-OES y de la detección de partículas con SSNTD.

La Sección II está constituida por el trabajo experimental. Dentro de la misma, el **Capítulo 3** aborda todos los aspectos experimentales relativos a ambas técnicas y se comentan algunas experiencias preliminares. El mismo concluye con la presentación de las condiciones generales de trabajo. En el **Capítulo 4** se explican en forma exhaustiva los patrones de calibración desarrollados. Los resultados correspondientes a estos sistemas se contrastan con aquellos obtenidos mediante fórmulas analíticas y mediante la simulación estocástica del proceso de formación de trazas. Los detalles de esta validación de la técnica se presentan en el **Capítulo 5**.

El **Capítulo 6** está dedicado a la aplicación de ambas técnicas en el análisis de la distribución espacial de ^{10}B en muestras provenientes de diferentes modelos biológicos: melanomas cutáneos implantados en ratones *nude*, hígados normales de ratas BDIX y tumores provenientes de un modelo de cáncer oral en hámsters. Además, se presentan los resultados de concentración global de ^{10}B en hígado normal de pacientes. Finalmente, el análisis y la discusión de los resultados se desarrollan en el **Capítulo 7** que, junto con las Conclusiones, constituye la Sección III.

Introducción

Índice

Agradecimientos.....	7
Resumen.....	10
Sección I. Introducción	14
Capítulo 1. La Terapia por Captura Neutrónica de Boro.....	15
Compuestos borados.....	19
Primera generación de compuestos borados	21
Segunda generación de compuestos borados.....	22
Tercera generación de compuestos borados.....	24
Fuentes de neutrones.....	26
Componentes de la dosis en BNCT	28
Antecedentes clínicos de BNCT.....	29
Proyecto BNCT en la CNEA.....	33
Capítulo 2. Determinación de ^{10}B	36
Técnicas de detección de ^{10}B	37
Espectroscopía de Emisión Óptica con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente	43
Funcionamiento de ICP-OES.....	47

Espectrometría de Masas con fuente de Plasma Acoplado Inductivamente	50
Detección de partículas con SSNTD.....	52
El proceso de formación de trazas	54
Revelado, ataque químico o etching de los detectores	56
El umbral de detección	59
La aplicación de la Autorradiografía en BNCT.....	60
Sección II. Trabajo Experimental.....	64
Capítulo 3. Consideraciones Experimentales para la Cuantific. de ¹⁰ B	65
Autorradiografía.....	65
Detectores de trazas nucleares.....	66
Generación de trazas latentes	68
El proceso de etching.....	72
Sistema de observación y conteo	77
Método de medición con ICP-OES	80
Condiciones generales de trabajo	83
Capítulo 4. Autorradiografía para la Determinación de ¹⁰ B: Sistemas de Referencia para el Análisis Cuantitativo.....	85
Experiencias preliminares	86
1. Filtros de papel absorbente	86
2. Geles de agar-agar	87
3. Láminas de alcohol polivinílico (PVA en polvo).....	87
4. Láminas de silicato de sodio (gel hidrosoluble).....	88
Sistemas de referencia definitivos.....	89

Small Lexan Cases (SLCs)	89
Geles de Agarosa.....	95
Densidad óptica en imágenes autorradiográficas	98
Capítulo 5. Simulación Estocástica del Proceso de Formación y Detección de Trazas Nucleares.....	104
Características del Código BPSS.....	105
Resultados de las Simulaciones.....	106
Capítulo 6. Análisis de Muestras Biológicas por Autorradiografía.....	112
Consideraciones preliminares.....	113
Manejo de muestras biológicas.....	113
Sistema de marcado de las folias.....	114
Evaluación del fondo.....	116
Correcciones por evaporación.....	117
Metodología general	119
Aplicaciones.....	122
Hígado normal de pacientes	122
Modelo experimental de melanoma en ratones nude.....	125
Hígado de rata BDIX	131
BNCT secuencial en el modelo de cáncer oral en la bolsa de la mejilla del hámster: Distribución espacial de GB-10	133
Sección III. Discusión y Conclusiones.....	141
Capítulo 7. Análisis y Discusión de los Resultados	142
Caracterización del Lexan	142
Sistema de calibración para AQT.....	143

Cuantificación por densidad óptica	145
Simulación estocástica del proceso de formación de trazas.....	146
Aplicaciones.....	148
Conclusiones	154
Apéndices.....	157
Apéndice A. Tablas de Referencia	158
Apéndice B. Análisis de Datos a partir de los Sistemas de Referencia....	160
SLCs.....	162
Calibración 1 (2009-2010).....	162
Calibración 2 (desde 2011).....	162
Agarosas.....	164
Agarosas preliminares.....	164
Agarosas LMP	165
Densidad Óptica	166
BPSS (Capítulo 5).....	166
Apéndice C. Aplicaciones	168
Referencias bibliográficas	173