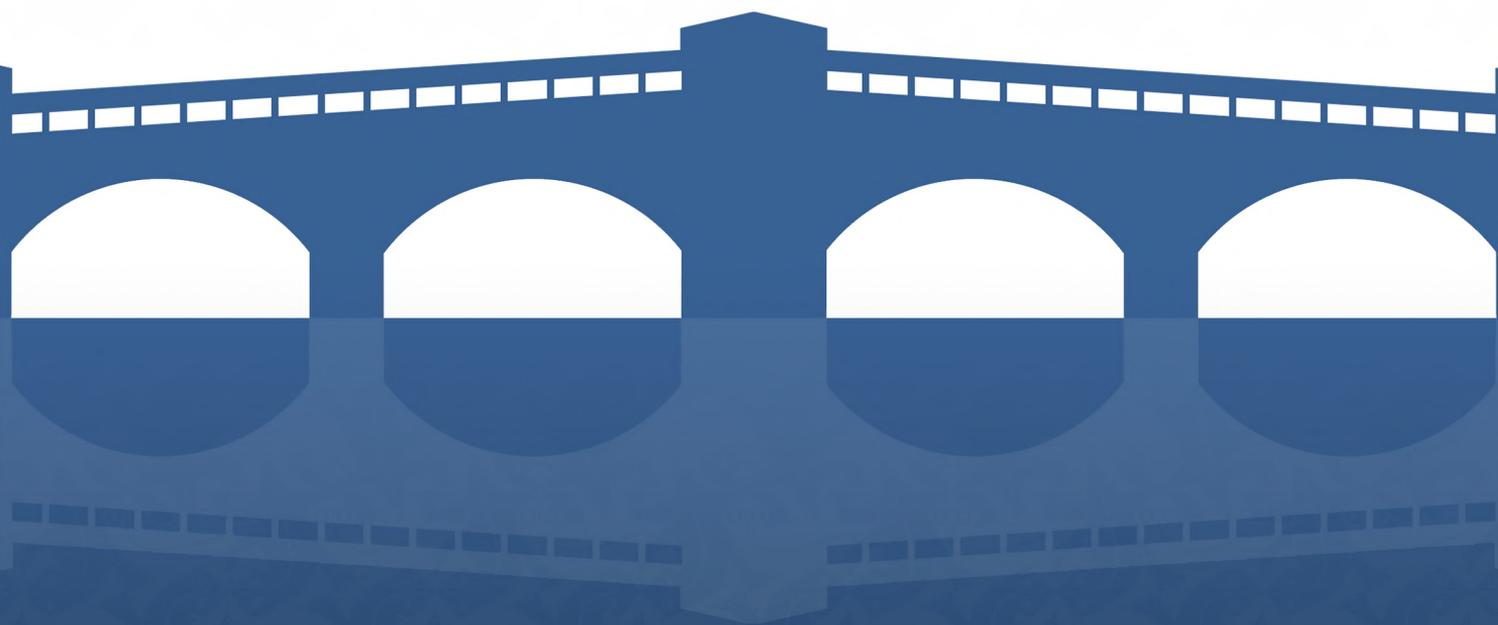


Investigación y desarrollo en BNCT para el tratamiento de nuevas patologías.

Ing. Lucas Provenzano

Dirección:

Dra. Sara J. González y Dra. Silva Bortolussi



Argentina
2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SAN MARTÍN
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA
INSTITUTO DE TECNOLOGÍA
“Prof. Jorge A. Sabato”

Investigación y desarrollo en BNCT para el tratamiento de nuevas patologías (*)

Por Ing. Lucas Provenzano

Directoras:

Dra. Sara J. González

Dra. Silva Bortolussi

(*) Tesis para optar al título de *Doctor en Ciencia y Tecnología. Mención Física*

República Argentina

2020

Resumen

En los últimos años la terapia por captura neutrónica en boro (BNCT) ha demostrado ser una alternativa viable para el tratamiento de determinados cánceres sin otra opción terapéutica. A lo largo de este trabajo se hicieron contribuciones originales en investigación y desarrollo de BNCT para el tratamiento de osteosarcoma y carcinoma de células escamosas.

Se extendieron por primera vez las técnicas de autorradiografía neutrónica y de espectrometría alfa para la medición de boro en tejidos duros. Para el caso de autorradiografía neutrónica se construyó una curva de calibración a partir de concentraciones conocidas de ácido bórico embebidas en muestras de hueso en polvo. Por su parte, la técnica de espectrometría alfa requirió la determinación del poder de frenado de partículas alfa en tejido oseo utilizando la técnica de PIXE. Para ambas técnicas se realizaron simulaciones por método de Monte Carlo que profundizaron el entendimiento de la física involucrada. Las extensiones propuestas se validaron midiendo muestras y contrastando los resultados obtenidos con mediciones realizadas con ICP (Inductively Coupled Plasma).

En segunda instancia se evaluó el desempeño terapéutico del reactor argentino RA-6 para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello (carcinoma

de células escamosas). Esta evaluación involucró la participación en ensayos preclínicos en pacientes veterinarios y el desarrollo de herramientas de dosimetría computacional. Se modificó un modelo de probabilidad de control tumoral para que considere la distribución de dosis completa recibida por el tumor y se introdujo por primera vez en BNCT el concepto de probabilidad de control tumoral libre de complicaciones.

Las herramientas desarrolladas permitieron evaluar el desempeño terapéutico del haz estudiado y realizar comparaciones con versiones modificadas del mismo y con haces de referencia internacional. Estas comparaciones se llevaron a cabo a partir de simulaciones computacionales en contextos simplificados y a partir del estudio retrospectivo de casos clínicos tratados exitosamente con el haz del reactor finlandés FiR1. Los resultados obtenidos evidencian que estas herramientas tienen un gran potencial como estándares de evaluación y comparación para el desarrollo de BNCT.

Palabras clave: Carcinoma de células escamosas, osteosarcoma, espectrometría alfa, autoradiografía neutrónica, probabilidad de control tumoral, probabilidad de complicación en tejido sano y probabilidad de control tumoral sin complicaciones, potencial terapéutico.

Abstract

In recent years, Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) has proven to be a viable alternative for the treatment of certain types of cancer with no other therapeutic option. Throughout this work, original contributions were made in the research and development of BNCT for the treatment of osteosarcoma and squamous cell carcinoma.

For the first time, neutron autoradiography and alpha spectrometry techniques were extended to measure boron in hard tissues. In the case of neutron autoradiography, a calibration curve was constructed using boron powder samples with known concentrations of boric acid. The alpha spectrometry technique required the determination of the stopping power of alpha particles in bone tissue using the PIXE technique. For both techniques, Monte Carlo simulations were carried out to improve the understanding of the involved physics. The proposed extensions were validated by measuring samples and comparing the results obtained with measurements made with ICP (Inductively Coupled Plasma).

In the second part of this work, the therapeutic performance of the Argentine reactor RA-6 was evaluated for the treatment of head and neck cancer (squamous cell carcinoma). This evaluation involved the participation in preclinical veterinary trials and the development of computational dosimetry tools. A tumor control probability model was modified to take

into account the complete dose distribution received by the tumor and the concept of uncomplicated tumor control probability was introduced for the first time in BNCT.

The tools developed allowed comparing the therapeutic performance of the studied beam and making comparisons with modified versions and international reference beams. Computational simulations in simplified models and retrospective studies of clinical cases successfully treated with the Finnish reactor FiR1 were carried out. The obtained results show that the proposed dosimetric tools have great potential as evaluation and comparison standards for the development of BNCT.

Keywords: Squamous cells carcinoma, osteosarcoma, alpha spectrometry, neutron autoradiography, tumor control probability, normal tissue complication probability, uncomplicated tumor control probability, therapeutic potential.

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis directoras Sarita y Silva. No solo por el excelente trabajo de dirección, si no porque además, su compromiso con la ciencia es ejemplar e inspirador. A lo largo de este trabajo tuve la suerte de contar con la participación invaluable de la Dra. Agustina Portu. Su asistencia y su asesoramiento fueron claves para que este trabajo se desarrolle con éxito.

También quiero agradecer al Dr. Gustavo Santa Cruz y al Dr. Rubén Farías por su colaboración incondicional. Durante esta etapa compartí el espacio de trabajo con excelentes personas que hicieron esta experiencia mucho más amena. Entre ellas no puedo dejar de mencionar al Ing. Mario Gadán, al Ing. Matías Valero y a la Lic. Susana Nievas, con quienes compartí incontables charlas, almuerzos y horas de estudio.

Quiero agradecer especialmente a la Lic. María Silvina Olivera, que además de ser una excelente compañera de trabajo, su ayuda fue fundamental para validar gran parte de los desarrollos de esta tesis.

Tuve la oportunidad de interactuar con personas muy valiosas de todas las áreas del proyecto argentino de BNCT: Quiero agradecer a las doctoras Amanda Schwint, Andrea Monti Hughes, Verónica Trivillin y Marcela Garabalino por confiar en mí durante la participación de los ensayos preclínicos veterinarios, a la Dr. Gisela Saint Martin por su colaboración y

sus contribuciones durante los estudios de las muestras de hueso, al personal del reactor RA-3, al Dr. Luis Miguel Rodríguez, al grupo del departamento de colisiones del centro atómico Bariloche, a Esteban Boggio y a Juan Longhino del reactor RA-6.

Parte del trabajo presentado en esta tesis se realizó en la ciudad de Pavia, Italia. Allí fui cálidamente recibido por personas brillantes. Entre ellas quiero agradecer a los doctores Ian Postuma, Setareh Fatemi, Chiara Magni, Nicoletta Protti y Saverio Altieri.

El estudio retrospectivo de los casos clínicos tratados en Finlandia fue posible gracias a la colaboración de la Dra. Hanna Koivunoro a quien también agradezco por la confianza.

Por último quiero agradecer a mi familia a quienes amo profundamente y me dan fuerzas para seguir.

Índice general

Resumen	II
Abstract	IV
Agradecimientos	VI
Índice general	VII
1 Introducción	1
1.1 Antecedentes y contexto.	8
1.2 Motivación y objetivos.	12
1.2.1 Medición de la concentración de boro por espectrometría alfa y autorradiografía neutrónica: extensión de las técnicas y sus aplicaciones a osteosarcoma y otros tejidos duros.	13
1.2.2 Evaluación del potencial terapéutico de BNCT para el tratamiento de nuevas patologías utilizando el haz B2 de la facilidad del reactor RA-6.	14
1.3 Organización de Tesis.	16

1.4	Producción científica.	19
1.5	Presentaciones a congresos.	21
2	Tratamiento de nuevas patologías	27
2.1	Cáncer de cabeza y cuello.	27
2.2	Herramientas computacionales para estudios dosimétricos retrospectivos.	32
2.2.1	MCNP.	32
2.2.2	Multicell.	35
2.2.3	BnctAR.	36
3	Cuantificación de boro 10 en tejidos celulares	38
3.1	Principios de la autorradiografía neutrónica.	42
3.2	Principios de la espectrometría alfa.	45
3.3	Espectroscopía de Emisión Óptica con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente.	47
4	Autorradiografía neutrónica	51
4.1	Introducción.	53
4.1.1	Preparación de la muestra.	54
4.1.2	La irradiación y proceso de formación de trazas.	56
4.1.3	El revelado de trazas latentes.	57
4.1.4	El conteo de trazas y análisis cuantitativo de la concentración de boro.	58

Índice general

4.2	Problemáticas asociadas a tejidos duros.	59
4.3	Propuesta de extensión.	61
4.4	Materiales y métodos.	62
4.4.1	Estudios preliminares.	62
4.4.2	Desgaste mecánico y generación de polvo de fémur.	66
4.4.3	Contenedores de policarbonato.	67
4.4.4	Irradiación de muestras.	69
4.4.5	Proceso de revelado de trazas latentes.	70
4.4.6	Conteo digital de trazas.	71
4.4.7	Efecto de la superposición de trazas.	75
4.4.8	Construcción de patrones borados y curva de calibración.	78
4.4.9	Simulaciones computacionales.	81
4.5	Resultados y discusión.	82
4.6	Conclusiones.	86
5	Espectrometría Alfa	88
5.1	Introducción.	89
5.1.1	Cuantificación de boro 10 en tejidos blandos.	89
5.1.2	Limitaciones de los tejidos duros y propuesta de extensión.	93
5.2	Materiales y métodos.	94
5.2.1	Determinación del poder de frenado de tejidos duros.	95

5.2.2	Efecto de la inhomogeneidad estructural de los tejidos duros.	97
5.2.3	Determinación de la concentración de boro de muestras de hueso.	100
5.2.4	Cálculo de espectros de energía de partículas alfa en tejidos duros mediante métodos estocásticos.	102
5.2.5	Cálculo de espectros de energía de partículas alfa en tejidos duros mediante métodos analíticos.	105
5.3	Resultados y discusión.	106
5.4	Conclusiones.	113
6	Tratamiento de nuevas patologías	116
6.1	Introducción.	117
6.2	Materiales y Métodos.	121
6.2.1	El reactor RA-6 y el haz B2.	121
6.2.2	Modelo computacional de la fuente de neutrones.	122
6.2.3	Tratamientos clínicos veterinarios.	123
6.2.4	Planificación del tratamiento.	124
6.2.5	Simulación del posicionamiento.	127
6.2.5.1	Simulación con modelo impreso en tres dimensiones.	128
6.2.5.2	Simulación en entorno virtual.	131
6.2.6	Irradiación de los pacientes.	133
6.3	Resultados y discusión.	135

6.3.1	Caracterización computacional del haz B2.	135
6.3.2	Tratamientos clínicos veterinarios.	138
6.4	Conclusiones.	144
7	Figuras de mérito radiobiológicas	147
7.1	Introducción.	148
7.1.1	El desempeño terapéutico de un haz de BNCT.	148
7.1.2	Desventajas de los modelos dosimétricos actuales.	153
7.2	Materiales y Métodos.	158
7.2.1	Dosis isoefectiva.	158
7.2.2	Evaluación de modelos de dosis-efecto.	159
7.2.3	Modelo de probabilidad de control tumoral.	160
7.2.3.1	Distribución de dosis homogénea.	160
7.2.3.2	Distribución de dosis heterogénea.	161
7.2.4	Modelo de probabilidad de complicación de tejido normal.	165
7.2.5	Análisis retrospectivo de casos clínicos.	167
7.2.5.1	Construcción de las simulaciones de MCNP.	169
7.2.5.2	Análisis dosimétrico.	171
7.3	Resultados y discusión.	174
7.3.1	Dosimetría original de los pacientes tratados con el reactor FiR1.	174
7.3.2	Dosimetría simulada utilizando el haz B2 del reactor RA-6.	179

7.4	Conclusiones	183
8	Nuevas estrategias de evaluación de tratamientos	185
8.1	Introducción.	186
8.1.1	UTCP: Probabilidad de control tumoral sin complicaciones.	186
8.1.2	Estudio sistemático en caso estándar.	190
8.2	Materiales y métodos.	191
8.2.1	Comparación de haces de tratamiento.	191
8.2.1.1	Reactor FiR1.	193
8.2.1.2	Haz B3 del reactor RA-6.	194
8.2.1.3	Acelerador RFQ.	195
8.2.2	Estudio sistemático en fantoma cilíndrico.	195
8.2.3	Utilización de FOMs radiobiológicas en análisis retrospectivos de pacientes humanos.	198
8.3	Resultados y discusión.	199
8.3.1	Estudio sistemático en fantoma cilíndrico.	199
8.3.2	Utilización de FOMs radiobiológicas en análisis retrospectivos de pacientes humanos.	203
8.4	Conclusiones.	207
9	Conclusiones	209
	Bibliografía	219

1

Introducción

En la actualidad, el cáncer es la segunda causa de mortalidad por enfermedad en el ser humano. Debido a su naturaleza genética, una vez que se manifiesta, la única posibilidad de erradicarlo consiste en la inactivación total de las células enfermas para evitar así su reproducción desmedida. En ciertos casos, la proliferación anormal de las células mutadas compromete la funcionalidad de los tejidos que las albergan poniendo en riesgo la vida de quien padece la enfermedad.

Como consecuencia de estas características, el tratamiento óptimo de esta enfermedad implica maximizar su especificidad sobre las células afectadas preservando el tejido sano libre de injurias. Desafortunadamente, esta es la principal dificultad a la que se enfrentan los tratamientos convencionales. Tanto las cirugías oncológicas como las terapias químicas y aquellas que utilizan radiaciones ionizantes, tienen un alto impacto sobre el tejido sano. Este motivo impide que se puedan aplicar con la intensidad necesaria para garantizar el éxito clínico sin arriesgar la integridad del paciente.

Hoy en día, a pesar de las limitaciones mencionadas, los tratamientos radiantes de rutina han alcanzado un alto nivel de complejidad capaz de mejorar considerablemente su efectividad mientras se mantiene la calidad de vida del enfermo de cáncer, prolongando su vida y hasta en algunos casos curándolo. Sin embargo, dichos avances no opacan la expectativa del desarrollo de nuevos métodos efectivos que prioricen la conservación del tejido sano.

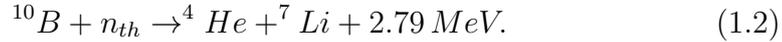
La Terapia por Captura Neutrónica en Boro (BNCT, por sus siglas en inglés) es una de las alternativas que se encuentra en pleno auge y desarrollo. Apenas cuatro años después de que el neutrón fuera descubierto en 1932 por James Chadwick, el biofísico estadounidense G.L. Locher propuso un sencillo pero elegante concepto. Basándose principalmente en la alta sección eficaz de neutrones térmicos que posee el boro 10, Locher postuló que si fuera posible concentrar dicho isótopo selectivamente en el tumor, al irradiarlo con un haz de neutrones térmicos se produciría una reacción nuclear capaz de liberar la energía suficiente para inactivar la capacidad proliferativa de la célula tumoral que aloja al boro.

En términos físicos, existen dos posibles vías de interacción entre un neutrón térmico y el boro 10 (^{10}B). Una de ellas se produce en el 94 % de las interacciones:



mientras que en el 6 % de las mismas no se emite el fotón y la energía se

reparte directamente entre la partícula alfa (4H) y el litio (7Li):



Una de las ventajas de la interacción entre el neutrón térmico y el boro es que el conjunto de la partícula alfa y el átomo de litio posee un rango combinado del orden del radio celular ($12 - 13 \mu m$). Debido a la alta transferencia lineal de energía (LET), la energía liberada se deposita en la célula que concentra el boro a lo largo de una traza de alta densidad de ionización.

La estrategia adoptada para aumentar la especificidad del daño producido por la reacción de captura en las células enfermas consiste en ligar el boro 10 a una molécula de transporte selectivo. Este tipo de moléculas poseen alguna característica química que favorece su transporte hacia las células cancerígenas. El compuesto borado ideal es aquel que maximiza la relación de captación entre el tumor y el tejido sano al mismo tiempo que resulta inocuo para el resto del metabolismo del paciente. Típicamente, este tipo de compuesto es suministrado al paciente por vía intravenosa. Algunos de los fármacos más utilizados en la práctica clínica de la terapia son la borofenilalanina-fructosa (BPA) y el borocaptato de sodio (BSH)[1, 2, 3].

Según la cinética metabólica de cada compuesto, el suministro intravenoso se realiza en un intervalo de tiempo previo a la irradiación de modo que la relación de las concentraciones entre tumor y tejido sano sea máxima. Estos intervalos se determinan a partir de experimentos de biodistribución

en modelos animales o incluso en estudios preclínicos en humanos[4]. Para llevar a cabo dichos estudios es esencial la implementación de técnicas de determinación de boro en los distintos tipos de tejidos biológicos involucrados en el tratamiento.

Una vez infundido, el paciente es irradiado con un haz de neutrones de características espectrales adecuadas. Dichos haces deben estar diseñados para proporcionar un alto flujo de neutrones térmicos a la profundidad media de la lesión. Generalmente, la producción de neutrones de estas características involucra procesos físicos que generan radiaciones contaminantes. Dichas radiaciones interactúan con los diferentes tejidos de forma no específica, generando en ciertas oportunidades efectos indeseados en el tejido sano. Por este motivo, es muy importante que la contaminación en las fuentes de neutrones diseñadas para BNCT sea mínima.

La calidad espectral óptima de un haz de clínico depende de la lesión que se desee tratar. En el caso de tumores profundos se requiere un haz epitérmico que pierda su energía mediante interacciones con los tejidos del paciente. De este modo, al alcanzar la localización del tumor, los neutrones tendrán la energía térmica necesaria para interactuar con el boro ^{10}B alojado en las células tumorales. En cambio, para tratar tumores superficiales, es conveniente contar con un haz donde predominen los neutrones de energías más bajas. Así, los mismos serán capaces de interactuar con el isótopo de boro en los primeros centímetros de penetración en el paciente.

Los primeros ensayos clínicos de esta terapia se llevaron a cabo utilizando

reactores nucleares. Estas máquinas generan haces de neutrones de intensidad suficiente para producir un efecto terapéutico sobre los tumores de los pacientes a partir de la interacción con el compuesto borado suministrado.

Numerosos proyectos clínicos alrededor del mundo han demostrado un alto grado de éxito en la implementación de BNCT basado en reactores nucleares. En la mayoría de ellos se utilizaron reactores de investigación adaptados para que los recintos de irradiación cumplan con los requisitos de seguridad necesarios para llevar a cabo un tratamiento médico. Sin embargo, este tipo de adaptaciones no son suficientes para alcanzar el nivel de complejidad asistencial que tiene un hospital.

En los últimos años se entendió que para que el BNCT se vuelva una opción masiva de tratamiento oncológico se debía implementar la tecnología necesaria para colocar fuentes de neutrones seguras en ámbitos hospitalarios. En respuesta a esta necesidad se desarrollaron distintos tipos de aceleradores de partículas cargadas con blancos productores de neutrones. En la actualidad, existen tres facilidades clínicas funcionales de BNCT basadas en aceleradores en Kyoto, Osaka y Fukushima (Japón). Además, se está comisionando una facilidad en Corea del Sur y la primera facilidad europea en la ciudad de Helsinki (Finlandia).

En Argentina, la Comisión Nacional de Energía Atómica impulsa su propio proyecto de terapia por captura neutrónica en boro que involucra alrededor de 80 profesionales de diversas áreas del conocimiento. El carácter multidisciplinario de este grupo ha permitido a lo largo de los años cubrir

prácticamente todas las áreas de interés para el desarrollo de la terapia: desde los aspectos más básicos de investigación hasta la complejidad de la implementación clínica.

Los primeros ensayos en seres humanos realizados en nuestro país corresponden al estudio fase I/II para el tratamiento de melanoma cutáneo en extremidades. Estos tratamientos se llevaron a cabo en el reactor RA-6 del Centro Atómico Bariloche entre Octubre de 2003 y Junio de 2007. A partir del 2007, en concordancia con las políticas nacionales en materia de no proliferación, la CNEA puso en marcha la reconversión del núcleo del reactor RA-6. Este procedimiento implicó el aumento de la densidad de potencia del combustible y también motivó la remodelación del filtro externo, colimadores, puerto y sala de irradiación de la facilidad de BNCT. El nuevo haz de tratamiento se conoce como *haz B2* por suceder a la antigua versión llamada *haz B1*.

En diciembre de 2009 el reactor fue licenciado para operar a una potencia de 1 MW térmico. Hoy en día la sala de tratamiento cuenta con un espacio mucho más amplio que la sala original, e incluye un delimitador cónico que protruye del puerto facilitando no sólo el posicionamiento de los pacientes con melanomas en extremidades sino que a su vez amplía el espectro de patologías que podrían tratarse en dicha facilidad.

Además del proyecto clínico propiamente dicho, el grupo argentino es mundialmente reconocido por sus aportes en las áreas de radiobiología de BNCT, imageneología, detección y cuantificación de compuestos borados,

desarrollo de fuentes de neutrones basadas en aceleradores y en dosimetría computacional. Este reconocimiento ha permitido establecer colaboraciones estrechas con grupos científicos de todas partes del mundo.

Una de las colaboraciones más productivas y con mayor número de antecedentes resulta ser la colaboración con el grupo italiano de BNCT perteneciente al Istituto di Fisica Nucleare (INFN) que desarrolla sus actividades de investigación principalmente en la Universidad de Pavia. En los últimos años, el trabajo conjunto entre ambos grupos ha potenciado sus capacidades dando como resultado una extensa producción científica, así como también la firma de un convenio de colaboración internacional entre las dos instituciones (*Convenio específico bilateral INFN-CNEA: R.P CNEA Nro. 471/2019*)[5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14]. Entre los aportes realizados se destacan: la caracterización computacional de facilidades de irradiación, la puesta a punto de distintas técnicas de detección y medición de compuestos borados y el desarrollo de modelos de cálculo de dosis y probabilidad de efecto a partir de la generación de datos radiobiológicos in-vitro e in-vivo.

El trabajo presentado a continuación se enmarca en este proyecto de colaboración internacional y como objetivo principal, pretende contribuir a la ampliación del espectro de aplicaciones clínicas de la Terapia por Captura Neutrónica en Boro.

1.1. Antecedentes y contexto.

En el año 2003, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT #3976) y la Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN #21190) aprobaron la puesta en marcha de los ensayos clínicos fase I/II de BNCT CNEA-Instituto Roffo para el tratamiento de pacientes portadores de melanomas cutáneos en extremidades [15]. En octubre de ese mismo año se realizó por primera vez en la Argentina el tratamiento de esta patología utilizando el haz mixto térmico-epitérmico del reactor RA-6 del Centro Atómico Bariloche [16].

En vista de los resultados alentadores obtenidos en el primer tratamiento se realizaron 10 aplicaciones en un total de 7 pacientes [17]. Para que esto fuera posible se desarrolló el sistema de planificación de tratamientos NCTPlan [18] basado en el modelo de voxelización propuesto en González et al. [19]. En forma complementaria se desarrollaron diferentes herramientas computacionales especializadas en la evaluación y análisis de la dosimetría tridimensional en tumores pequeños y órganos de riesgo [20, 21]. Además, se estudió la posible influencia del volumen tumoral y la dosis total equivalente sobre la respuesta tumoral local observada, determinando por primera vez en BNCT la dosis de control para melanomas cutáneos para dos grupos de tumores [17].

Al mismo tiempo, a nivel internacional la terapia comenzó a demostrar efectividad para el tratamiento de diversos tipos de patologías. Entre ellas

se puede mencionar el tratamiento de tumores de cabeza y cuello [22], mesoteliomas pulmonares [23] y metástasis de hígado de forma extracorpórea seguido de su autotransplante total [24]. En este contexto y dada la ampliación y remodelación de la sala de tratamiento del reactor RA-6, diferentes grupos médicos argentinos plantearon la posibilidad de extender los ensayos clínicos de BNCT a otras localizaciones. Esta propuesta impulsó el inicio y continuación de nuevos estudios preclínicos que abarcan experimentos de biodistribución de compuestos borados [25, 26, 8, 27, 28, 14], y estudios dosimétricos computacionales de factibilidad para diferentes haces de neutrones[29, 30, 31]. También se profundizó en el estudio de la irradiación extracorpórea de órganos utilizando el reactor RA-3 del Centro Atómico Ezeiza (CNEA). En colaboración con el grupo de Pavia, se trabajó en el diseño completo del reactor y la convergencia del modelo MCNP de la fuente de partículas. Dicho modelo fue validado de forma exitosa en función de mediciones experimentales [5].

Recientemente y bajo la misma colaboración, se dio inicio al estudio de factibilidad que contempla la aplicación de BNCT para el tratamiento in-situ de tumores de tórax difusos y/o recurrentes sin tratamiento curativo disponible[6]. Este estudio demostró que es posible irradiar porciones grandes del tórax humano usando haces de neutrones colimados. Los resultados positivos de este estudio en conjunto con el rendimiento mejorado del nuevo haz del reactor RA-6 y de la facilidad en sí misma, brindan sustento adicional a la propuesta de explorar el potencial terapéutico de BNCT para el tratamiento de metástasis pulmonares.

En Pavia, los ensayos preclínicos de BNCT se iniciaron en los años 80. Por primera vez se investigó la idea de tratar con terapia neutrónica las metástasis difusas de hígado incorporando la técnica de autotrasplante. Esta terapia se basa en la infusión del compuesto borado al paciente, y luego en la irradiación del órgano ex-situ en la columna térmica del reactor TRIGA Mark II de Pavia. El estudio culminó con una fase clínica de aplicación en 2 pacientes con metástasis múltiples e inoperables de adenocarcinoma de colon [24]. El resultado de esta experimentación demostró que la terapia es factible y eficaz.

La Universidad de Pavia continúa su investigación en BNCT evaluando nuevos posibles blancos de tratamiento. Entre ellos se encuentran las lesiones difusas de pulmón que no son pasibles de cirugía y el osteosarcoma de miembros. Esta última enfermedad consiste en un tumor muy agresivo que afecta en mayor medida a la población joven. Si bien el osteosarcoma se cura en el 80% de los casos, debido a la naturaleza infiltrante de las células tumorales, es muy probable que genere metástasis y recurrencias que complican el cuadro clínico del paciente. Más aún, algunos de ellos tienen que someterse a la amputación del miembro y por ello se considera que el osteosarcoma es una patología que tiene un precio social muy alto.

Gracias a la colaboración entre CNEA y INFN se han logrado importantes avances en el desarrollo de técnicas de medición que permiten cuantificar el boro contenido en un tejido y determinar así su biodistribución a nivel celular.

Una de estas técnicas desarrollada principalmente en Italia es la espectrometría alfa. Esta técnica se basa en la espectrometría de las partículas cargadas que se producen en una muestra de tejido con boro irradiada en vacío con un campo de neutrones térmicos en frente a un detector de silicio. La energía residual de las partículas alfa, los núcleos de litio 7 y los protones que salen de la muestra, es colectada por el detector obteniendo así un espectro de frenado completo. El espectro medido es el resultado de la superposición de las contribuciones de las 3 partículas, pero es posible seleccionar un rango de energías donde la única contribución esté dada por las partículas alfa.

Para inferir la concentración de boro a partir del espectro de las partículas alfa es necesario conocer la curva de la energía residual en función del espesor de tejido atravesado. Por este motivo, para poner esta técnica en práctica es fundamental determinar esta magnitud experimentalmente.

Otro de los métodos desarrollados en el marco de la colaboración se basa en la técnica de autorradiografía neutrónica cuantitativa. Esta técnica consiste en depositar cortes delgados de tejido sobre detectores plásticos sensibles a las partículas cargadas (SSNTD) que luego son irradiados con un haz de neutrones de energía apropiada. Las partículas cargadas que nacen de la captura neutrónica en el boro contenido en el tejido producen trazas invisibles en el detector.

Para poder visualizar estas trazas es necesario agrandarlas con un proceso químico de ensanchado o “etching” que consiste en sumergir la muestra en una

solución de NaOH a temperatura constante durante un tiempo determinado. A partir de las muestras con trazas observables se utiliza una cámara microscópica para medir la densidad superficial de trazas.

La correlación entre la densidad de trazas con la concentración de boro se lleva a cabo empleando una curva de calibración que debe ser obtenida previamente a partir de muestras estándar con concentraciones de boro conocidas. Este área de investigación también se desarrolló en el marco de la colaboración CNEA-INFN. Hoy en día ambos grupos son referencia internacional en el uso de auotradiografía para la determinación de boro en tejidos blandos y líquidos [32, 33].

Evaluar la factibilidad de la aplicación de BNCT al tratamiento de osteosarcoma requiere poder aplicar este tipo de técnicas a los huesos. A diferencia de los tejidos blandos que se cortan a baja temperatura con un crióstato convencional, el tejido duro necesita técnicas más complejas que degradan la integridad estructural de las muestras y pueden comprometer las mediciones. Además, es necesario estudiar la interacción de las partículas alfas con el tejido óseo para determinar la pérdida de energía.

1.2. Motivación y objetivos.

Este trabajo se enmarca en la colaboración internacional entre la Comisión Nacional de Energía Atómica y el grupo BNCT del Istituto Nazionale di Fisica Nucleare y de la Universidad de Pavia. El objetivo principal es abordar

el estudio de determinadas problemáticas que incuben a la investigación y desarrollo para el tratamiento de nuevas patologías mediante la terapia por captura neutrónica en boro. En particular, se estudiarán técnicas de medición de boro en muestras de tejidos duros y se evaluará el potencial clínico del reactor RA-6 para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello.

1.2.1. Medición de la concentración de boro por espectrometría alfa y autorradiografía neutrónica: extensión de las técnicas y sus aplicaciones a osteosarcoma y otros tejidos duros.

La rigidez característica de los tejidos óseos afectados por la enfermedad de osteosarcoma no permite que éstos sean tratados del mismo modo que los tejidos blandos cuando se trata de determinar su concentración de boro a través técnicas nucleares. Esta dificultad se debe principalmente a la imposibilidad de obtener muestras delgadas de este tipo de tejidos.

Tanto la técnica de autorradiografía neutrónica como la espectrometría alfa requieren de muestras delgadas para poder medir su concentración de boro. Distintas técnicas de desgaste mecánico permiten obtener cortes de hueso de espesores del orden de la décima de milímetro. Sin embargo, este tipo de muestras no son lo suficientemente delgadas para poder caracterizar el poder de frenado de las partículas alfa a partir de experimentos de transmisión.

En este trabajo se propone extender las técnicas de alfa espectrometría y autoradiografía neutrónica para que sean capaces de medir la concentración de boro de muestras de hueso. Para ello se exploró en profundidad la física involucrada en las dos técnicas de medición y se propusieron modificaciones en los procedimientos que resuelven las complicaciones asociadas a las características de los tejidos en cuestión.

1.2.2. Evaluación del potencial terapéutico de BNCT para el tratamiento de nuevas patologías utilizando el haz B2 de la facilidad del reactor RA-6.

Dadas las características espectrales del *haz B2* del reactor RA-6 y el interés médico fundado en la eficacia del tratamiento demostrada internacionalmente, actualmente en la Argentina se evalúa la posibilidad de tratar pacientes de cáncer de cabeza y cuello con BNCT. Con el objetivo de evaluar la capacidad de tratamiento del *haz B2* en un contexto clínico, en este trabajo se propuso estudiar la dosimetría computacional de casos reales de pacientes que presenten patologías de interés.

La evaluación del haz argentino se llevó acabo en dos etapas. En una primera instancia se estudió el potencial terapéutico y las posibilidades de planificación de tratamientos que ofrece la facilidad del reactor durante dos tratamientos preclínicos de pacientes caninos. Para que esto fuese posible

se desarrollaron herramientas que facilitaron el ensayo de los tratamientos planificados y evitaron someter a los animales a extensas sesiones de anestesia.

En segundo lugar, se realizó un estudio dosimétrico que consistió en la simulación computacional de tratamientos de pacientes humanos. Para ello se recrearon los planes de tratamiento de casos clínicos de pacientes de cabeza y cuello tratados originalmente en la ciudad de Helsinki pero utilizando el haz *B2* del reactor RA-6. La capital de Finlandia es reconocida por tratar más de 100 pacientes con cáncer de cabeza y cuello inoperable de recurrencia local durante las fases I/II de ensayos clínicos de BNCT [34]. Contar con la información necesaria para recrear dichos tratamientos supone una gran ventaja ya que permite comparar el desempeño del haz argentino en contraste con un haz de referencia internacional ampliamente validado.

Para comparar de forma justa el desempeño de los haces de tratamiento fue necesario desarrollar herramientas basadas en las metodologías de análisis dosimétrico más novedosas que se disponen en la actualidad. Parte de este desarrollo consistió en la extensión de un modelo de probabilidad de control tumoral para que el mismo sea capaz de predecir el éxito clínico en base a la distribución de dosis completa recibida por el tumor. Además, se introdujo por primera vez en BNCT el concepto de probabilidad de control tumoral sin complicaciones o UTCP por sus siglas en inglés (Uncomplicated Tumor Control Probability).

Las herramientas desarrolladas, además de mostrar importantes ventajas

sobre las ya existentes, permitieron evaluar el potencial terapéutico, tanto del *haz B2* actual como el de una versión optimizada propuesta por el personal del reactor.

1.3. Organización de Tesis.

La documentación del trabajo realizado se organiza en 9 capítulos. Esta introducción presenta de forma concisa la motivación y el contexto en el que se realizaron las actividades de investigación y desarrollo.

El segundo capítulo pretende recopilar información necesaria para la comprensión del resto del trabajo poniendo el foco en las patologías de interés y las herramientas utilizadas.

En el tercer capítulo se detallan características básicas de las técnicas de medición de boro estudiadas. Se introducen formalmente los protocolos existentes de autoradiografía neutrónica y espectrometría alfa para la determinación de boro 10 en tejidos blandos. Además, se describe la técnica analítica de ICP (Inductively Coupled Plasma) utilizada como referencia para la validación de las extensiones propuestas.

En el cuarto capítulo se documentan los experimentos realizados para extender la técnica de autoradiografía neutrónica a tejidos duros. Se explora el uso de tratamientos químicos de descalcificación y técnicas mecánicas de desgaste y pulverización, se construye una curva de calibración basada en

concentraciones conocidas de ácido bórico embebidas en polvo de hueso y, por último, se compara la utilización de muestras pulverizadas y muestras delgadas desgastadas mecánicamente.

El quinto capítulo expone el trabajo realizado para la extensión de la técnica de alfaespectrometría. En este capítulo se presenta la determinación experimental del poder de frenado de las partículas alfa en el tejido duro utilizando la técnica PIXE. También se estudia la influencia de la estructura porosa de los huesos a partir de simulaciones computacionales. Por último se aplica la técnica para determinar la concentración de boro de muestras de fémures de oveja provenientes de experimentos de distribución de compuestos borados. Los resultados obtenidos se comparan con mediciones de las mismas muestras utilizando la técnica de autoradiografía desarrollada en el capítulo anterior.

El capítulo seis relata la participación en los estudios preclínicos de tratamiento de cáncer de cabeza y cuello de dos pacientes caninos utilizando el *haz B2* del reactor RA-6. Además, se muestra el procedimiento y el análisis de los resultados obtenidos en la planificación de los tratamientos realizados. La comparación entre la dosimetría computacional y los efectos clínicos obtenidos da pie a la elaboración de las primeras conclusiones acerca del potencial terapéutico del *haz B2* del reactor argentino.

En el capítulo siete se introducen las figuras de mérito radiobiológicas como herramientas de evaluación de haces de tratamiento. Allí se describen las principales desventajas del modelo de cálculo de dosis actualmente adoptado

por la comunidad científica. A partir de la adopción de un modelo de cálculo de dosis más realista se extiende un modelo de probabilidad de control tumoral (TCP) para que contemple la distribución de dosis no homogénea recibida por el tumor. El modelo de TCP obtenido se empleó en el análisis retrospectivo de pacientes reales. En este análisis también se evaluó el efecto del tratamiento sobre los órganos de riesgo utilizando un modelo de probabilidad de complicación en tejido normal (NTCP). Este tipo de estudios retrospectivos consistieron en simular computacionalmente casos clínicos tratados originalmente en Finlandia utilizando distintos haces de tratamiento para contrastar los resultados obtenidos.

El capítulo ocho propone una nueva figura de mérito compuesta que permite, entre otras cosas, maximizar la probabilidad de control tumoral minimizando el daño colateral que reciben los tejidos sanos circundantes. A partir de esta nueva figura llamada Probabilidad de Control Tumoral sin Complicaciones (UTCP), se proponen nuevas estrategias para la comparación rigurosa de distintos haces de tratamiento.

Por último, el capítulo nueve reúne las conclusiones obtenidas y el lineamiento del trabajo futuro.

1.4. Producción científica.

- Measuring the stopping power of alpha particles in compact bone for BNCT. L. Provenzano, L.M. Rodríguez, D. Fregenal, G. Bernardi, C. Olivares, S. Altieri, S. Bortolussi, S.J. González. IOP Conference Series. (583)012047. 2015.
- Photon iso-effective dose for cancer treatment with mixed field radiation based on dose-response assessment from human and an animal model: clinical application to boron neutron capture therapy for head and neck cancer. S.J. González, E.C.C. Pozzi, A. Monti Hughes, L. Provenzano, H. Koivunoro, D.G. Carando, S.I. Thorp, M.R. Casal, S. Bortolussi, V.A. Trivillin, M.A. Garabalino, P. Curotto, E.M. Heber, G.A. Santa Cruz, L. Kankaanranta, H. Joensuu and A.E. Physics in Medicine & Biology. 62(20), 7938. 2017.
- Extending neutron autoradiography technique for boron concentration measurements in hard tissues. Applied Radiation and Isotopes. L. Provenzano, M. S. Olivera, G. S. Martin, L. M. Rodriguez, D. Freguenal, S. Altieri, I. Postuma, S. J. González, S. Bortolussi, A. Portu. 137, 62-67. 2018.
- Charged particle spectrometry to measure ^{10}B concentration in bone. Radiation and environmental biophysics. L. Provenzano, S. Bortolussi, S. J. González, I. Postuma, N. Protti, A. Portu, M. S. Olivera, L. M. Rodriguez, D. Fregenal, S. Altieri. 58(2), 237-245. 2019.

- The essential role of radiobiological figures of merit for the assessment and comparison of beam performances in boron neutron capture therapy. L. Provenzano, H. Koivunoro, I. Postuma, J.M. Longhino, E.F. Boggio, R.O. Farías, S. Bortolussi, S.J. González. *Physica Medica*. 67, 9-19. 2019.

1.5. Presentaciones a congresos.

**16to Congreso internacional de Terapia por Captura Neutrónica.
Junio 2014. Helsinki, Finlandia:**

- The first clinical BNCT assessment through TCP calculations based on the novel concept of photon isoeffective dose. *L. Provenzano, G.A. Santa Cruz, R.O. Farías and S.J. González.*
- Extension of the alpha spectrometry technique for boron measurements in bone. *L. Provenzano, S.J. González, S. Altieri, P. Bruschi, M.S. Olivera, A.M. Portu, I. Postuma, S. Bortolussi.*

17mo Conferencia internacional de la física de los iones pesados cargados. Septiembre 2014. Bariloche, Argentina:

- Stopping power of alpha particles in compact bone measured by rbs technique for BNCT. *L. Provenzano, L.M. Rodríguez, D. Fregenal, G. Bernardi, C. Olivares, S. Altieri, S. Bortolussi, S.J. González.*

**8va reunión internacional de jóvenes investigadores de BNCT.
Septiembre 2015. Pavia, Italia:**

- A comparison of the doses resulting from BNCT using the conventional RBE-weighted and the photon-isoeffective formalisms in patients

with malignant glioma progressing after conventional radiotherapy.

H. Koivunoro, S. González, L. Provenzano, G. Santa Cruz, L. Kankaanranta, H. Joensuu.

- Extending neutron autoradiography and alpha spectrometry techniques for boron measurements in bone. *L. Provenzano, A.M. Portu, M.S. Olivera, S. Altieri, I. Postuma, G. Saint Martin, S.J. González, S. Bortolussi.*

**17to Congreso internacional de Terapia por Captura Neutrónica.
Octubre 2016. Missouri, Estados Unidos:**

- Computational analysis of the feasibility of treating head and neck cancer with BNCT at the RA-6 Reactor. *L. Provenzano, H. Koivunoro, R.O. Farías, G.A. Santa Cruz, J.M. Longhino, E.F. Boggio, A. Monti Hughes, M. Garabalino, V.A. Trivillin, A. E. Schwint, S.J. González.*
- Advances in the autoradiography technique for Boron-10 quantification in bone. *L. Provenzano, A.M. Portu, M.S. Olivera, S. Altieri, I. Postuma, G. Saint Martin, S.J. González, S. Bortolussi*
- Re-start of Clinical and Pre-Clinical BNCT Activities at the Argentine RA-6 Nuclear Reactor. *G.A. Santa Cruz, J.M. Longhino, L. Provenzano, E.F. Boggio, B.M.C. Roth, M.D. Pereira, A. Monti Hughes, R.O. Farías, M.S. Olivera, M. Garabalino, S.I. Nieves, P.R. Menéndez, M.A. Cantarelli, M. Rao, M.R. Casal, D. Feld, V.A.*

Trivillin, E. Pozzi, E. Heber, F. Brollo, M. Herrera, J. Kessler, S. Bortolussi, A. E. Schwint, S.J. González

- Clinical application of the photon iso-effective dose concept in BNCT from dose-response assessments in an in-vivo oral cancer model. *S.J. González, E.C.C. Pozzi, G.A. Santa Cruz, A. Monti Hughes, L. Provenzano, M.R. Casal, H. Koivunoro, V.A. Trivillin, S.I. Thorp, P. Curotto, M.A. Garabalino, E.M. Heber, L. Kankaanranta, H. Joensuu, J. Hopewell and A.E. Schwint.*
- Tailoring of an epithermal neutron beam for the RFQ based facility of INFN. *I.Postuma, S.Bortolussi, N.Protti, S.Fatemi, L. Bianchini, J.Valsecchi, S.J. González, L. Provenzano, J.Esposito, E.Fagotti, A.Pisent and S.Altieri*

56va Conferencia Anual de Terapia de Partículas (PTCOG).

Mayo 2017. Yokohama, Japón:

- Tumor control and normal tissue complication probability analysis in a series of head and neck cancer patients treated with BNCT. *H. Koivunoro, S. González, L. Provenzano, L. Kankaanranta, H. Joensuu.*

BNCT Workshop. Mayo 2017. Bialystock, Polonia:

- Ongoing Clinical and Clinical-veterinary BNCT Studies at RA-6 Nuclear Reactor in Argentina. *S.J. González, J.M. Longhino,*

L. Provenzano, E.F. Boggio, B.M.C. Roth, M.D. Pereira, A. Monti Hughes, R.O. Farías, M.S. Olivera, M.A. Garabalino, S.I. Nieves, P.R. Menéndez, M.A. Cantarelli, M. Rao, M.R. Casal, D. Feld, V.A. Trivillin, E. Pozzi, E. Heber, F. Brollo, M. Herrera, J. Kessler, S. Bortolussi, A. E. Schwint, G.A. Santa Cruz.

9na edición de las Jornadas CUIA en Argentina: Terapia por Captura Neutronicas en Boro (BNCT) Neutrones para la salud. Abril 2017. Buenos Aires, Argentina:

- BNCT en osteosarcoma: cuantificación de boro en tejidos duros. *L. Provenzano.*

18to Congreso internacional de Terapia por Captura Neutrónica. Octubre 2018. Taipei, Taiwan:

- Computational assessment of BNCT neutron beams using radiobiological models. *L. Provenzano, J. M. Longhino, A. Monti Hughes, H. Koivunoro, G. A. Santa Cruz, M. A. Garabalino, M. S. Olivera, V. A. Trivillin, E. F. Boggio, M. A. Cantarelli, M. Rao, R. O. Farias, S. Nieves, S. Bortolussi, A. E. Schwint, S. J. Gonzalez.*
- Exploring neutron autoradiography and alpha spectrometry techniques for boron measurements in bone. *L. Provenzano, A. Portu, M. S. Olivera, S. Altieri, I. Postuma, N. Protti, G. Saint Martin, S. J. Gonzalez, S. Bortolussi.*

**10ma reunión internacional de jóvenes investigadores de BNCT.
Septiembre 2019. Helsinki, Finlandia:**

- Comprehensive benchmarking strategies for BNCT beams based on predicted clinical outcome. *L. Provenzano, H. Koivunoro, I. Postuma, J.M. Longhino, E.F. Boggio, R.O. Farías, S. Bortolussi, and S.J. González.*
- Web toolbox for BNCT treatments assessment. *L. Provenzano y S. J. González.*

**58va Conferencia Anual de Terapia de Partículas (PTCOG).
Junio 2019. Manchester, Reino Unido:**

- A comparison of dose estimation models for the normal tissue complication probability after BNCT. *H. Koivunoro, S. González, L. Provenzano, L. Kankaanranta, and H. Joensuu.*
- Clinical veterinary boron neutron capture therapy (BNCT) studies in dogs with head and neck cancer with no therapeutic option. *A.E. Schwint, A. Monti Hughes, M.A. Garabalino, G.A. Santa Cruz, S.J. Gonzalez, J. Longhino, L. Provenzano, P. Oña, M. Rao, M.A. Cantarelli, A. Leiras, M.S. Olivera, V.A. Trivillin, P. Alessandrini, F. Brollo, E. Boggio, H. Costa, R. Ventimiglia, S. Binia, E.C.C. Pozzi, S.I. Nievas, I.S. Santa Cruz.*

24vo Congreso Internacional de Física Médica. Septiembre 2019.

Santiago de Chile, Chile:

- Feasibility study of boron neutron capture therapy concomitant with interstitial brachytherapy. *E. Boggio, L. Provenzano, M. Galassi, S. González*

2

Tratamiento de nuevas patologías

2.1. Cáncer de cabeza y cuello.

El cáncer de cabeza y cuello es un conjunto de enfermedades que tienen su origen en las células escamosas que revisten las superficies húmedas y mucosas del interior de la cabeza y del cuello (por ejemplo, dentro de la boca, de la nariz y de la garganta) [35]. Suelen ser identificados con frecuencia como carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello. Si bien estas enfermedades también pueden originarse en las glándulas salivales, estos casos son relativamente poco comunes. Los cánceres de cabeza y cuello se categorizan de acuerdo a la zona de la cabeza o del cuello en la que se originan. En general suelen afectar las cavidades orales, la faringe, la laringe y los senos paranasales. En ocasiones, es posible encontrar células escamosas cancerosas en los ganglios linfáticos de la parte superior del cuello cuando no hay evidencia de cáncer en otras partes de la cabeza y del cuello. Cuando esto sucede, el cáncer se llama cáncer escamoso metastático de cuello con

tumor primario desconocido (oculto) [36].

Los principales factores que aumentan el riesgo de contraer cánceres de cabeza y cuello son el consumo de tabaco y alcohol. Estos hábitos pueden afectar especialmente a la cavidad oral, la laringe, la orofaringe y la hipofaringe [37]. El 75 % de los cánceres de cabeza y cuello a nivel global son causados por estos motivos [38]. Otro factor de riesgo es la infección con los tipos de virus del papiloma humano que causan cáncer, en particular cánceres de orofaringe que comprometen a las amígdalas y la base de la lengua [39]. La higiene bucal y la exposición ocupacional a la radiación o a ciertos productos comunes en el sector industrial pesado también han sido reconocidos como posibles factores de riesgo [40].

Mundialmente, el cáncer de cabeza y cuello es en promedio el séptimo cáncer más común (el quinto más común entre los hombres y el doceavo más común entre las mujeres). Durante el año 2018 se estimó un total de 888000 nuevos casos y 453000 decesos [41]. La relación de incidencia entre la población de hombres y mujeres es de 3:1 y el 70 % de los casos nuevos se originan en países de ingresos medios y bajos.

Los tres principales tipos de tratamiento que facilitan el control del cáncer de cabeza y cuello son la radioterapia, la cirugía y la quimioterapia. Al tratarse de un conjunto complejo de enfermedades que afecta a distintas estructuras anatómicas, el tratamiento adecuado depende de la localización y del estadio de la lesión. En general, los tratamientos primarios consisten en una combinación de radioterapia y cirugía, mientras que la quimioterapia se

usa como tratamiento adicional o coadyuvante.

El control de la enfermedad local es de importancia central cuando se trata a pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. De no lograr el control es altamente probable que se produzca recurrencia en el sitio del tumor primario o en los ganglios linfáticos regionales. Además, los pacientes pueden desarrollar enfermedad metastásica, ya sea como consecuencia de la diseminación del tumor primario antes del diagnóstico inicial o de una enfermedad locorregional persistente o recurrente resistente al tratamiento. Ambos escenarios clínicos representan problemas de manejo extremadamente complejo [42].

Pese a los avances en las terapias convencionales la recurrencia de la enfermedad se presenta en más del 50% de los casos tratados de cáncer avanzado de cabeza y cuello. Dicha recurrencia suele originarse después del tratamiento de un tumor inoperable, ya sea por la insensibilidad intrínseca o adquirida a la radioterapia y/o quimioterapia o porque la enfermedad produce metástasis en localizaciones distantes [42].

En general, dado que el paciente ya ha recibido un tratamiento radiante del tumor primario, la irradiación de las recurrencias se ve limitada por la dosis recibida previamente por las estructuras sanas circundantes a la lesión principal.

BNCT se presenta ante este escenario clínico como una alternativa con una doble ventaja terapéutica. En primer lugar, la selectividad del compuesto borado infundido en el paciente garantiza que la deposición de la dosis se

produzca mayoritariamente en las células cancerígenas. De este modo, los órganos sanos no corren el riesgo de recibir dosis altas ni se ven afectados por la acumulación de dosis de tratamientos previos. La segunda ventaja radica en que aquellas células cancerígenas infiltradas en el tejido sano periférico también recibirán una alta dosis específica disminuyendo así la probabilidad de futuras recurrencias.

Los primeros estudios de BNCT para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello fueron publicados por un grupo de científicos japoneses en el año 2004 [43]. Estos ensayos consistieron en el tratamiento de 26 pacientes con cánceres muy avanzados para quienes no existía otra opción terapéutica. Del total de casos tratados 12 presentaron regresión completa, 10 regresiones parciales y únicamente 3 casos progresaron sin efectos observables. La sobrevida media registrada fue de 13.6 meses y el 24% de los casos sobrevivieron 6 años o más.

En occidente, más precisamente en Espoo, Finlandia, entre los años 2003 y 2012 se llevó a cabo uno de los ensayos clínicos de BNCT para el tratamiento de cabeza y cuello más grandes hasta la fecha. Entre un total de 117 casos tratados durante los ensayos clínicos de fase I/II del *Helsinki University Central Hospital*, 79 pacientes correspondieron a casos de carcinomas inoperables de células escamosas localmente recurrentes de la región de la cabeza y el cuello [34]. Este último grupo de pacientes recibió en su mayoría dos aplicaciones de BNCT separadas por un intervalo de 3 a 6 semanas. Cada aplicación del tratamiento consistió en 2 horas de administración intravenosa de BPA (400 mg/kg) seguidas de la irradiación

de uno o dos campos convergentes de neutrones. La exposición promedio a cada una de las incidencias de neutrones fue de alrededor de 20 minutos.

Todos los pacientes fueron irradiados en la facilidad finlandesa de BNCT del reactor FiR1. El FiR1 es un reactor de investigación Triga Mark II de 250 kW de potencia. Sus características espectrales son ideales para BNCT ya que se trata de un haz puramente epitérmico con una contaminación muy baja de fotones y neutrones rápidos [44].

De los 79 pacientes de cáncer de cabeza y cuello solo se pudo completar el seguimiento de 69. Entre estos, se registraron 25 remisiones completas y 22 remisiones parciales, mientras que en 17 de ellos se estabilizó la enfermedad y en 5 la misma siguió progresando. Los efectos adversos más comunes detectados fueron mucositis oral, dolor oral y fatiga, todos ellos clínicamente controlables. Tres pacientes vivieron sin indicios de la enfermedad durante 5.5, 7.8 y 10.3 años después del tratamiento. La sobrevida media fue de 10 meses y el 21 % de los casos vivieron 2 o más años[34].

En los últimos años, la facilidad de BNCT del reactor FiR1 fue puesta fuera de servicio por motivos económicos. Con la intención de continuar con el proyecto, el *Helsinki University Central Hospital* adquirió una nueva facilidad de BNCT basada en un acelerador de protones con blanco de litio desarrollado por la empresa estadounidense *Neutron Therapeutics Inc.*. A diferencia del reactor, la nueva facilidad se encuentra ubicada en el recinto del hospital, lo cual facilita la asistencia de los pacientes a lo largo de todo el tratamiento. Actualmente, la instalación se encuentra finalizada y se prevé

que comenzará a irradiar nuevos pacientes en el año 2021.

Como se mencionó anteriormente, el proyecto finlandés es el responsable de los ensayos clínicos de BCNT para el tratamiento de cabeza y cuello más numeroso publicado hasta la fecha. Con el objetivo de evaluar el potencial terapéutico de la facilidad de BNCT del reactor argentino RA-6, se estableció una colaboración entre CNEA y científicos finlandeses que permitió el acceso a información relacionada con los tratamientos realizados durante los ensayos clínicos. La información proporcionada se utilizó para simular computacionalmente la irradiación de los pacientes.

El estudio retrospectivo computacional consistió en reemplazar el haz de tratamiento original por el *haz B2* del reactor RA-6, evaluar el efecto terapéutico y compararlo con la respuesta real obtenida.

2.2. Herramientas computacionales para estudios dosimétricos retrospectivos.

2.2.1. MCNP.

Para implementar el estudio dosimétrico retrospectivo de los pacientes finlandeses intercambiando el haz original por el *haz B2* se utilizaron varias herramientas computacionales distintas. El estudio de la dosis depositada por la fuente requiere del cálculo del transporte de partículas. Para ello se utilizó

el código MCNP [45].

MCNP (Monte Carlo N-Particle) es un lenguaje de programación desarrollado en el Laboratorio de Los Álamos en Estados Unidos. Se trata de un código de simulación por método de Monte Carlo ampliamente validado que actualmente lleva más de 40 años de desarrollo. La versión utilizada en este trabajo fue la 6.1. MCNP permite simular el transporte de neutrones y fotones entre otros tipos de partículas y además, evaluar la interacción de la radiación con la materia.

Su funcionamiento se basa en la descripción geométrica y material de una región del espacio con la cual interactúa la radiación emitida por una fuente cuyas características también son definidas en el código de la simulación. De acuerdo a esta información, el MCNP recrea la dinámica de la radiación a través del espacio considerando la sección eficaz propia de cada material que compone el esquema geométrico descrito.

MCNP posee distintos tipos de estimadores que permiten calcular magnitudes como la corriente, el flujo de partículas y la energía depositada. Además, ofrece la posibilidad de insertar tablas multiplicativas de factores de conversión dependientes de la energía. Esta característica es muy importante para este trabajo ya que, asumiendo condiciones de equilibrio electrónico y de partículas cargadas, es posible calcular dosis absorbida integrando el producto del flujo de partículas estimado por factores de KERMA apropiados.

El código cuenta con un amplio catálogo de tarjetas que se utilizan para

describir paramétricamente la geometría material que forma parte de la simulación. Para definir una geometría compleja se utiliza un lenguaje de lógica combinatorial que opera sobre superficies sencillas como planos, esferas y conos entre otros.

Para definir las fuentes de partículas MCNP usa un sistema de tarjetas similar al que se utiliza para describir geometrías. En este caso cada una de estas tarjetas representa una característica de la fuente y típicamente va acompañada de un parámetro numérico. Estos conjuntos de tarjetas y parámetros describen distintas propiedades de la fuente como pueden ser el tipo de partícula, espectro de energía, las coordenadas de origen y la dirección.

En el caso de problemas de transportes muy complejos MCNP brinda la posibilidad de separar el problema en partes utilizando la grabación del estado de las partículas en superficies o celdas elegidas por el usuario. Este tipo de fuentes de superficies permite ejecutar una primera simulación para calcular el transporte desde la fuente principal hasta un punto del espacio y generar un archivo de fuente secundaria con las características de las partículas en la localización especificada. Luego, el archivo generado se puede utilizar de fuente principal en una nueva simulación. Esta estrategia es muy útil para reducir el tiempo de cálculo en determinados casos.

Un ejemplo de la utilidad de este recurso es la simulación de la irradiación de un paciente en una facilidad de BNCT basada en un reactor nuclear. En este trabajo, para simular el tratamiento de los pacientes finlandeses

empleando el *haz B2* del reactor RA-6 se utilizó una fuente de superficie grabada en la base del puerto cónico del haz. Esta fuente se grabó en una simulación previa que incluía la descripción completa de la estructura del reactor. De este modo, en cada uno de los pacientes simulados se ahorró el tiempo de cálculo que hubiese implicado simular el transporte de partículas desde el núcleo del reactor hasta la base del puerto cónico.

2.2.2. Multicell.

Describir la anatomía de un paciente utilizando los recursos que provee MCNP es una tarea muy compleja. En general, se suele utilizar un programa adicional que genera la descripción del paciente en lenguaje MCNP a partir de imágenes médicas de tomografía computada o resonancia magnética. En este trabajo se utilizó el programa Multicell creado por el Dr. Rubén Farias y la Dra. Sara González [46]. Multicell es un planificador de tratamientos orientado a BNCT desarrollado en lenguaje MATLAB que permite segmentar imágenes y crear un modelo voxelizado a partir de lo que haya en ellas. Una de las ventajas principales del Multicell es que tiene la capacidad de minimizar el número de voxeles variando su tamaño sin comprometer la resolución de la descripción. En términos prácticos, Multicell, a diferencia de otros programas similares, es capaz de crear un modelo MCNP con la misma resolución que las imágenes médicas empleando el menor número de voxeles posibles. En la figura 2.1 se puede ver una representación bidimensional de la generación de voxeles a partir de una imagen de tomografía segmentada en regiones

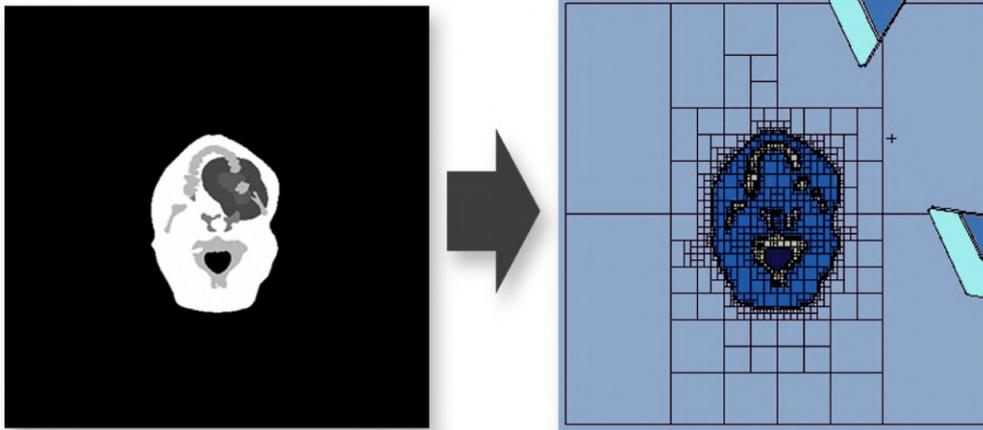


Figura 2.1: Voxelización de una tomografía segmentada utilizando el programa Multicell.

anatómicas de interés.

2.2.3. BnctAR.

El análisis dosimétrico de los casos estudiados se llevó a cabo utilizando un programa desarrollado exclusivamente para este propósito en el marco del presente trabajo. BnctAR consiste en un conjunto de herramientas de análisis desarrolladas en lenguaje MATLAB dispuestas en una interfaz de usuario sencilla. A partir de los resultados obtenidos en las simulaciones de MCNP, BnctAR posee algoritmos para calcular dosis absorbidas y dos tipos de dosis fotón equivalente. Además permite visualizar la distribución espacial de las dosis superpuestas a imágenes médicas. También genera histogramas acumulados dosis volumen de las estructuras anatómicas segmentadas e incorpora los nuevos modelos de cálculo de probabilidad

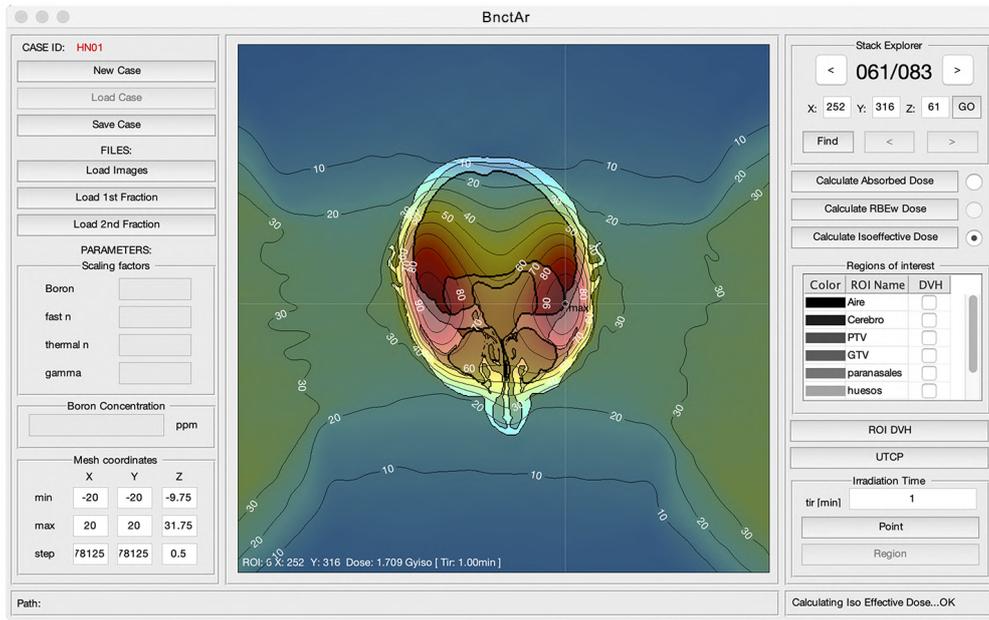


Figura 2.2: Interfaz gráfica del programa BnctAr desarrollado para el estudio de casos clínicos.

de efecto desarrollados para este trabajo. La interfaz gráfica del programa desarrollado se puede ver en la figura 2.2

3

Cuantificación de boro 10 en tejidos celulares

El osteosarcoma es un tumor primario que afecta principalmente a los huesos largos de pacientes adolescentes. Esta enfermedad tiene una incidencia mundial de 3.4 afectados por millón de personas por año [47]. En la mayoría de los casos tiene un alto grado de malignidad y en el 20 % de ellos desarrolla metástasis pulmonar. Debido a su agresividad y a su capacidad de infiltrarse entre el tejido óseo sano, es un cáncer muy difícil de tratar. En los últimos años, gracias a los avances en procedimientos quirúrgicos complementados con quimioterapias adyuvantes y neo-adyuvantes, la supervivencia de los pacientes de osteosarcoma ha mejorado considerablemente [48]. Sin embargo, estos tratamientos tienen un costo significativo en términos de agresividad y la probabilidad de recurrencia ocasionada por micrometástasis es elevada.

Al tratarse de una lesión tumoral de grandes dimensiones y con una proporción significativa de células hipóxicas, se suele considerar

al osteosarcoma como un tumor particularmente resistente a esquemas convencionales de radioterapia de fotones. Sin embargo, la evidencia clínica también demuestra que fracciones únicas de dosis muy altas suelen tener un efecto beneficioso para el paciente [49]. Durante el año 2013, un estudio de 37 pacientes realizado en Japón demostró que un esquema de irradiación extracorpórea del hueso afectado seguida de su reimplante produce resultados prometedores libres de recurrencia [50].

En los últimos años, BNCT ha sido estudiado como una opción terapéutica para esta patología debido a la posibilidad de direccionar el daño a las células malignas infiltradas [51]. Entre los proyectos más recientes se pueden mencionar los ensayos preclínicos rusos en modelos animales y los tratamientos clínicos japoneses. Los ensayos rusos consistieron en la irradiación de 9 perros con osteosarcoma de extremidades. En este estudio se evaluó el efecto de la terapia por captura neutrónica basada en boro y también en gadolinio. El animal tratado con BNCT demostró una regresión completa de la enfermedad dos meses y medio después de ser tratado. Además, no presentó ningún efecto indeseado en el resto de los tejidos sanos [52].

Las primeras aplicaciones de BNCT en seres humanos para el tratamiento de osteosarcoma se llevaron a cabo en Japón. Allí se trató un paciente con sarcoma maxilar recurrente (osteosarcoma fibroblástico) [43] y un osteosarcoma radioinducido de cráneo [51]. Para este último caso, el tumor mostró control local estable sin ninguna recurrencia durante los 17 meses próximos al tratamiento. Durante este periodo el estado general del paciente mejoró considerablemente.

En la actualidad, el instituto italiano de física nuclear (INFN) cuenta con un acelerador de protones basado en cuadrupolos de radiofrecuencias (RFQ) que pretende ser usado en un futuro próximo como fuente de neutrones para BNCT. El RFQ genera protones de 5 MeV a 30 mA de corriente y posee un blanco de berilio capaz de generar neutrones. También cuenta con un filtro modulador de haz (BSA) que modifica los neutrones generados en el blanco de berilio para obtener un haz epitérmico adecuado para su uso clínico [53].

Las características espectrales del haz del RFQ son convenientes para el tratamiento de tumores profundos. Cuando los neutrones generados por este acelerador ingresan al tejido del paciente con energías epitérmicas alcanzan la energía apropiada para ser capturados por el boro a mayor profundidad que en el caso de los haces térmicos o mixtos. Por este motivo dentro de las posibles patologías candidatas para ser tratadas con este haz se estudia el cáncer de pulmón y el osteosarcoma [10, 6].

Una de las principales ventajas que destaca a la terapia por captura neutrónica en boro es la selectividad del daño celular. Las moléculas de boro se acoplan sintéticamente a compuestos químicos para que, una vez introducidas en el torrente sanguíneo, se concentren preferentemente en las células tumorales. Al irradiar los tejidos infundidos con un haz de neutrones de características espectrales apropiadas, la energía liberada resultante de la captura neutrónica se deposita en un rango espacial comparable al diámetro celular. Por lo tanto, mientras mayor sea la relación entre las concentraciones de boro captadas por las células tumorales y las células sanas, mayor será la probabilidad de controlar la proliferación del tumor y de prevenir el daño del

tejido sano circundante.

La cuantificación del boro 10 que se concentra en los tejidos celulares cumple un rol fundamental, tanto en el diseño de compuestos borados como en la dosimetría y la planificación de tratamientos. Durante la fase previa a la implementación clínica de la terapia, se realizan ensayos en seres vivos para estudiar la biodistribución del boro administrado[4]. De este modo se profundiza en el entendimiento de la cinética de los compuestos para mejorar sus diseños y se dimensiona la relación de captación de boro 10 entre los tejidos y la sangre para optimizar los planes de tratamiento.

Los estudios de biodistribución consisten en infundir a un ser vivo con un compuesto borado y tomar muestras de sangre o de tejido en determinados intervalos temporales. La concentración de boro 10 de las muestras se puede medir a partir de diferentes técnicas que se seleccionan según la naturaleza de la muestra y de la tecnología de medición disponible.

En general, entre las técnicas de cuantificación de boro 10 se pueden distinguir dos grupos: por un lado, las técnicas que se basan en la detección de alguno de los productos de la captura neutrónica, y por otro, aquellas que se basan en la detección de los rayos X característicos emitidos por la desexcitación de átomos de boro previamente excitados [54].

Las técnicas de espectrometría alfa y de autoradiografía estudiadas en este trabajo pertenecen al primer grupo mencionado, mientras que la técnica de espectroscopía de emisión óptica con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) pertenece al segundo. A continuación se detallan

los principios fundamentales de las técnicas estudiadas y los motivos por los cuales son de interés particular para la terapia por captura neutrónica en boro.

3.1. Principios de la autorradiografía neutrónica.

La autorradiografía neutrónica es una técnica de análisis que permite caracterizar determinados aspectos de fuentes emisoras de iones. Se basa principalmente en la sensibilidad al daño radioactivo de los detectores de trazas nucleares de estado sólido (SSNTD). La técnica data de mediados del siglo XX a partir del trabajo publicado por el químico D. A. Young [55], quien reporta la existencia de trazas nucleares en cristales de fluoruro de litio irradiado con fragmentos de fisión. A partir de entonces, investigaciones extensivas de los procesos de formación y visualización de trazas probaron que los SSNTD pueden utilizarse para evaluar la dosimetría de iones pesados [56].

Cuando un ion incide sobre la superficie de un polímero no conductor, describe una trayectoria a lo largo de la cual produce rupturas y reacomodamientos moleculares de las cadenas poliméricas. En particular, las trayectorias de los iones pesados son rectas. Esto se debe a que la interacción con los electrones de los átomos del polímero no producen desviamientos significativos mientras que la interacción con los núcleos, solo ocurre a bajas

energías y concluyen en el frenamiento total del ion.

El trayecto dañado se conoce como traza latente y posee un centro estable de diámetro menor a 50 \AA . Si bien estas trazas pueden ser visualizadas mediante microscopía electrónica, es posible someterlas a un proceso químico de revelado que permite agrandar su diámetro hasta que las mismas puedan observarse con un microscopio óptico.

Para magnificar las trazas latentes, el detector se sumerge en una solución química que remueve el material dañado a lo largo de las trayectorias impresas por las partículas. El aumento del tamaño de las trazas se produce si la solución degrada mas rápido el material dañado que la superficie sana del detector. La velocidad de degradación de la traza latente se conoce como *velocidad de traza*, depende de la cantidad de daño y no es constante a lo largo de la trayectoria descripta en profundidad. Por otro lado, la velocidad de degradación de la superficie sana del detector se conoce como *velocidad de bulk* y depende de características intrínsecas de la solución química y de las condiciones de revelado [57].

En la actualidad, además de su utilidad para la dosimetría y caracterización espacial de fuentes industriales de partículas cargadas, los detectores de trazas nucleares se utilizan para analizar muestras contenedoras de isótopos emisores [58]. En el caso específico del átomo de boro 10, si bien dicha capacidad de emisión no es propia de la naturaleza estable del isótopo, puede ser inducida mediante la captura de un neutrón térmico [59]. De este modo, la autoradiografía puede emplearse para estudiar la distribución local del boro

10 en muestras biológicas [60].

Una muestra de tejido previamente infundido con un compuesto borado puede adherirse con facilidad a la superficie del SSNTD para ser irradiado con un haz de neutrones de energía apropiada. La reacción de captura de los neutrones térmicos en los átomos de boro 10 produce partículas alfa e iones de litio 7 con la energía suficiente para trazar sus trayectorias en la superficie del detector. Las imágenes conformadas por acumulación de trazas reveladas proveen información acerca de la concentración de boro y de su distribución espacial en la muestra estudiada [61, 32, 33, 62].

Para referir la densidad de trazas detectada a una concentración determinada de boro 10 se debe contar con una curva de calibración. La misma puede construirse con muestras patrón con concentraciones de boro conocidas. Además, la composición elemental de los patrones debe ser equivalente a la de la muestra medida en términos de transporte iónico [63].

Si bien el tratamiento de las muestras para emplear la técnica de autorradiografía neutrónica fue ampliamente estudiado para tejidos blandos, su extensión a tejidos duros supone resolver ciertas cuestiones asociadas a la naturaleza de las muestras. En el capítulo 4 se describe en detalle el estudio y desarrollo de esta técnica aplicada a la determinación de la concentración de boro en tejidos duros.

3.2. Principios de la espectrometría alfa.

La espectroscopía alfa consiste en el estudio espectral de la energía depositada por una fuente de radiación alfa en un detector que en general suele ser semiconductor. Típicamente se lleva a cabo a partir de fuentes muy delgadas que apenas alcanzan los $50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ de espesor másico. Cuando el espesor de la fuente es significativamente menor que el rango de las partículas alfa en el material de la fuente, la atenuación de la energía por efecto de la autoabsorción es mínima. Si bien el espectro resultante consiste en la formación de picos gaussianos centrados en la energía característica del proceso de decaimiento que origina la radiación alfa, es posible que debido al ancho y a la cercanía estos picos se solapen.

La Figura 3.1 muestra el espectro de una fuente de americio 241 de $11 \mu\text{m}$ de espesor. El mismo fue medido en la Universidad de Pavia utilizando un detector de silicio albergado en un cámara de vacío junto a la fuente radioactiva. El espectro está constituido por la superposición de tres picos gaussianos centrados en 5338, 5443 y 5486 keV . Estas energías corresponden a los tres procesos de decaimiento más abundantes y característicos de la fuente de americio 241.

El incremento progresivo del espesor de una fuente alfa produce el ensanchamiento de los picos en el espectro. El efecto de absorción de la energía dentro de la fuente empieza a ser significativo y compromete a la resolución de la detección. Cuando el espesor supera el rango de las partículas

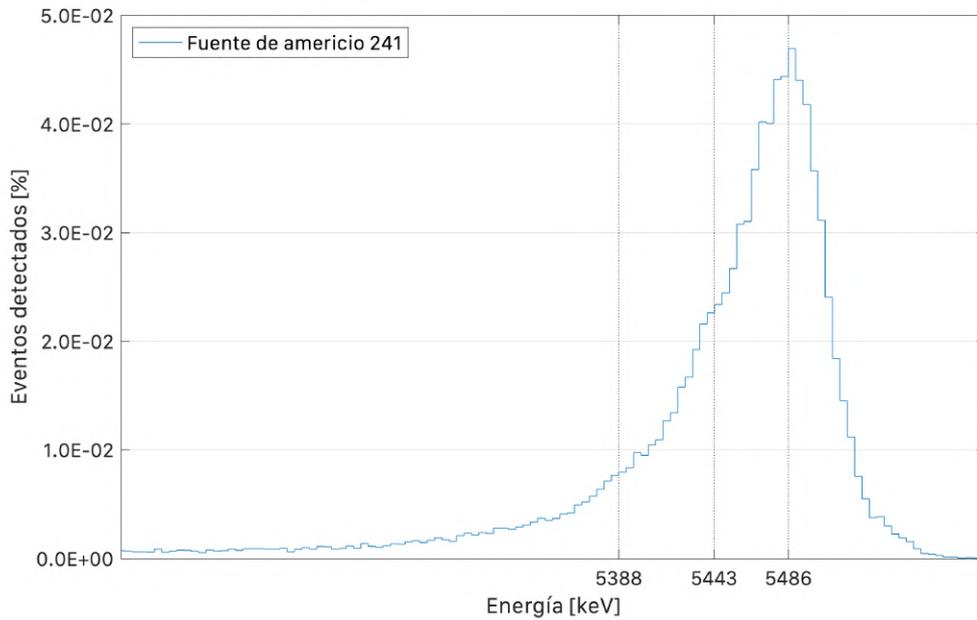


Figura 3.1: Espectro de fuente de americio 241 medido con un detector de silicio en una cámara de vacío.

alfa en el material de la fuente, la degradación de la energía produce un espectro que, en vez de constituirse por una serie de picos característicos, adquiere la forma de un perfil con escalones de caída sigmoidea.

En el caso de que la fuente fuese de un material complejo compuesto de varios isótopos radiactivos, es posible determinar la proporción de cada uno de ellos a partir del espectro de energías recolectado por el detector. Este análisis se denomina espectrometría alfa y se debe tener en cuenta que todas los tipos de radiación que emite la fuente pueden interactuar con el detector depositando energía por distintos mecanismos. Por este motivo es necesario conocer con anticipo la composición elemental de la fuente y los procesos de decaimiento que intervienen en la generación de la radiación emitida.

La espectrometría alfa no solo se restringe a la cuantificación de isótopos inestables. Aquellos isótopos estables que posean secciones eficaces altas para reacciones nucleares que emitan partículas alfa se pueden cuantificar induciendo la emisión de forma controlada.

El boro 10 embebido en muestras biológicas de interés para BNCT puede cuantificarse produciendo la reacción de captura con un haz de neutrones adecuado. Esta técnica se desarrolló en la Universidad de Pavia para determinar la concentración de boro en tejidos blandos. Los detalles del desarrollo y la implementación se explican en el capítulo 5, seguidos de la presentación de la técnica para la cuantificación de boro en tejidos duros extendida como parte de este trabajo.

3.3. Espectroscopía de Emisión Óptica con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente.

Cuando un átomo excitado regresa a su estado estable emite radiación electromagnética característica. La espectroscopía de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES) utiliza dicha emisión resultante para determinar el contenido y la concentración de especies moleculares presentes en compuestos químicos en estado líquido [64].

Un equipo de ICP-OES reúne la tecnología necesaria que permite llevar a

cabo el estudio analítico de una muestra de interés. En primer lugar, para realizar una caracterización elemental libre de interferencias, el compuesto líquido estudiado debe desacoplarse de su matriz estructural original. El proceso de deconstrucción estructural se conoce como atomización y en la práctica no solo debilita los enlaces químicos de la muestra, sino que también excita sus átomos para que emitan radiación electromagnética característica [65].

El atomizador por excelencia para la implementación de espectroscopía de emisión óptica es la fuente de plasma. Cuando un gas se calienta, determinada proporción de sus partículas se ionizan adquiriendo la propiedad de responder fuertemente a interacciones electromagnéticas. Este estado se conoce como plasma y a diferencia del estado gaseoso, bajo la influencia de campos magnéticos, puede conformar corrientes eléctricas y rayos [66].

El plasma analítico utilizado en espectroscopía suele alcanzar temperaturas cercanas a los 8000 K , por lo que se emplean gases inertes como el argón para evitar su combustión. La muestra nebulizada se introduce en el centro de la antorcha formada por el plasma donde se produce la excitación y la emisión característica.

Debido a la existencia de distintos modos de excitación, un mismo elemento puede emitir diferentes longitudes de onda. Para el caso de muestras compuestas, la luz emitida resulta de la combinación de las longitudes de ondas producidas por las distintas especies atómicas presentes. Para medir la intensidad de cada una de las longitudes de onda por separado, se utiliza un

monocromador. La luz descompuesta en sus ondas constituyentes se detecta mediante un detector fotosensitivo, como un tubo fotomultiplicador (PMT) o dispositivos de inyección de carga (CID) o de carga acoplada (CCD).

Para referir las intensidades detectadas a la concentración de un elemento determinado, el equipo de medición debe calibrarse utilizando muestras patrón de concentraciones conocidas. Si bien cada elemento emite en un conjunto discreto de longitudes de onda, algunas líneas pueden estar interferidas por otros elementos. Por este motivo suelen examinarse en simultáneo varias líneas espectrales características de cada elemento constituyente.

Caracterizar la composición elemental de una muestra con ICP-OES implica someterla a varias instancias destructivas e irreversibles. En el caso de las muestras sólidas es necesario disolverlas. Particularmente para la disolución de tejidos biológicos suelen utilizarse ácidos específicos cuya composición química no interfiera en la medición. En otros tipos de disoluciones como en el caso de la sangre se deben incorporar anticoagulantes que eviten que la solución se solidifique.

A pesar de no poder conservar la integridad de la muestra luego de la medición, el ICP-OES ha demostrado ser uno de los métodos de determinación de concentración de boro más confiable en el ámbito de la captura neutrónica en boro. A diferencia de las otras técnicas explicadas, la velocidad de medición permite que esta técnica pueda implementarse en simultáneo al tratamiento clínico para obtener información en tiempo real de

la concentración de boro en la sangre del paciente.

4

Autorradiografía neutrónica

La autorradiografía neutrónica con detectores poliméricos de trazas nucleares es una de las técnicas comúnmente utilizadas en la investigación de BNCT para determinar la concentración de boro 10 en tejidos biológicos.

Debido a las características estructurales del tejido óseo, la aplicación de autorradiografía en este tipo de tejido requiere del desarrollo de los procedimientos y consideraciones que se describen en este capítulo.

En una primera instancia del trabajo se estudiaron técnicas de descalcificación química que permiten cortar al hueso en láminas delgadas utilizando un crióstato convencional. Este proceso tiene la ventaja de que permitiría medir el tejido duro del mismo modo que se miden los tejidos blandos. Sin embargo, esta modalidad se descartó debido a la significativa pérdida de boro que conlleva el proceso de descalcificación química.

El método mecánico de desgaste para obtener secciones de hueso de espesor adecuado demostró ser una alternativa apropiada. Este método garantiza la

conservación del boro a lo largo del proceso de preparación de la muestra.

La técnica de autorradiografía neutrónica requiere de la construcción de una curva de calibración que relacione la densidad de trazas medida en la imagen del detector con la concentración de boro. En este trabajo se propone un método de construcción utilizando muestras patrón elaboradas a partir de concentraciones conocidas de ácido bórico embebidas en polvo de hueso. Este tipo de patrones cuenta con la misma composición química del tejido de interés y garantiza una distribución de boro uniforme en la muestra medida. Las muestras patrón se dispusieron en pequeños contenedores fabricados con un polímero llamado Lexan que es sensible a la radiación producida por reacción de captura neutrónica en boro. Los contenedores se irradiaron con un haz de neutrones de características apropiadas y las trazas reveladas en los detectores se cuantificaron utilizando imágenes de microscopía y un programa de procesamiento digital de imágenes.

Simultáneamente se realizaron simulaciones estocásticas para estudiar el proceso de producción de trazas en muestras óseas y evaluar el efecto de superposición espacial de trazas en la medición. Los resultados de las simulaciones fueron comparados con datos experimentales y se obtuvo una coincidencia notable.

La técnica extendida se utilizó para cuantificar la concentración de boro en el polvo generado a partir de muestras óseas y también en muestras delgadas desgastadas mecánicamente. Los resultados se compararon con mediciones realizadas con otras técnicas.

4.1. Introducción.

La autorradiografía es una técnica de trazado elemental basada en la cuantificación del daño producido por partículas de alto LET en un material detector estructuralmente sensible.

La primera publicación que documenta la utilización de la autorradiografía en el contexto de BNCT data de 1968 bajo la autoría de Fairchild y sus colaboradores [67]. En este trabajo se destaca el potencial de la técnica para mapear la concentración de boro a nivel celular y se pone a prueba en distintos tipos tejidos blandos de origen animal. Los autores manifiestan particular interés en el soporte que provee este tipo de información al desarrollo de compuestos borados.

En la actualidad, la técnica orientada al mapeo espacial del boro 10 ha sido explorada y revisada para adecuarla a las necesidades específicas de investigadores de todas partes del mundo [68, 69, 70, 71, 72]. Los trabajos más recientes evidencian cómo la combinación de la autorradiografía con técnicas de imagenología histológica mejoran el registro espacial del estudio de compuestos borados [73, 74].

Aplicar la autorradiografía neutrónica para el análisis cuantitativo del boro implica definir una calibración que relacione el número de trazas detectadas con valores de concentración del isótopo estudiado. Los primeros sistemas de calibración fueron publicados por D. Gabel en 1987 [75], y sus principios se continúan practicando en la actualidad [32, 62]. El sistema de calibración

clásico propuesto por Gabel consiste en la construcción de una curva que relacione la densidad de trazas generada por una muestra patrón con su concentración de boro previamente determinada en el diseño del experimento. Las muestras patrón comúnmente se elaboran a partir de homogenatos de tejido animal o materiales equivalentes a tejido inmersos en concentraciones conocidas de ácido bórico. Revisiones más modernas introdujeron el uso de papeles de filtro absorbente embebidos en soluciones de borocaptato de sodio (BSH) en remplazo de los homogenatos animales [76, 77]. Nótese que debido a la física asociada al proceso de formación de trazas, la curva de calibración depende tanto de la naturaleza de la muestra estudiada como del material que constituye el detector radiosensible.

La implementación de la técnica de autorradiografía neutrónica puede dividirse en cuatro etapas:

1. La preparación de la muestra.
2. La irradiación y el proceso de formación de trazas.
3. El revelado de trazas latentes.
4. El conteo de trazas y análisis cuantitativo.

4.1.1. Preparación de la muestra.

Se deben cumplir tres requisitos esenciales para que una muestra pueda analizarse a partir de autorradiografía neutrónica. El primero de ellos es

que el tejido contenga un isótopo de interés que produzca radiación de alto LET como consecuencia de la reacción nuclear inducida por una irradiación controlada. Para el interés particular del BNCT, la técnica permite estudiar la presencia de boro 10 a través de la detección de los productos de la reacción de captura neutrónica. En segundo lugar, la muestra debe ser capaz de depositarse en contacto total con la superficie del detector de trazas utilizado. Por último, la muestra debe tener un espesor superior al rango de la radiación medida para garantizar que la medición sea independiente del espesor.

Originalmente el detector de trazas predilecto para aplicaciones relacionadas a BNCT fue el nitrato de celulosa. Sin embargo, debido a que su fabricación está discontinuada, su uso fue remplazado por el del polialildiglicol carbonato (PADC). Este último también es conocido como CR-39 por ser el nombre de la marca comercial más utilizada. El CR-39 tiene una sensibilidad ideal que permite discriminar entre las trazas producidas por distintos tipos de partículas y además, la misma puede ser modelada químicamente según los requerimientos de la medición [76].

Una de las desventajas reconocibles del CR-39 es su fragilidad. Estos detectores se pueden adquirir en formato de láminas de tamaño y espesor similar a los porta muestras de microscopía óptica. Cualquier intento de esfuerzo mecánico, ya sea para marcarlo o para adaptar sus dimensiones a las necesidades experimentales, conlleva un alto riesgo de dañarlo de forma permanente.

Una alternativa al CR-39 son los detectores de policarbonato sensible a

los productos de la reacción de captura neutrónica en boro 10. Los mismos se comercializan con el nombre de Lexan y se pueden adquirir en distintos espesores. Su estructura es menos rígida que la del CR-39, permitiendo así, manipularlo con facilidad. En los últimos años ha sido ampliamente caracterizado para su implementación en la autorradiografía neutrónica [63].

Para fijar las muestra biológicas que se desea analizar a los detectores, se la secciona utilizando un crióstato que permita generar láminas delgadas y congeladas del orden de las decenas de micrones de espesor. Al apoyarlas sobre la superficie del detector a temperatura ambiente, se da lugar a un proceso de evaporación y pérdida de agua que permite que el tejido se adhiera de forma permanente. Una vez que el tejido fue depositado en Lexan se encuentra en condiciones de ser irradiado con un haz de neutrones apropiados para generar la impronta de trazas.

4.1.2. La irradiación y proceso de formación de trazas.

El proceso de formación de trazas comienza con la irradiación de la muestra depositada en el detector radiosensible. Como se mencionó anteriormente, la radiación primaria debe ser capaz de interactuar con el isótopo de interés embebido en la muestra para inducir la producción de partículas pesadas de alto LET sin dañar directamente al detector. El boro 10 posee una sección eficaz de 3840 *barn* para la captura de neutrones térmicos (0.025 eV). Cuando el neutrón es capturado se produce la formación metaestable de un núcleo

excitado de boro 11 que inmediatamente se divide en una partícula alfa y en un núcleo de litio 7. Ambos fragmentos salen despedidos en direcciones opuestas interactuando eventualmente con el detector de trazas.

Cuando las partículas pesadas inciden en el detector transfieren su energía ionizando las moléculas locales y modificando sus estructuras de forma irreversible. Las cascadas de ionizaciones y excitaciones generadas a lo largo de la trayectoria de la radiación incidente producen rupturas y reacomodamientos de las cadenas poliméricas del detector. El daño producido decrece desde el eje de incidencia hacia la región del material no expuesto describiendo una región afectada conocida como *traza latente* [56, 58].

Las fuentes de neutrones térmicos utilizadas para irradiar las muestras suelen ser reactores nucleares o aceleradores dedicados a la producción de neutrones.

4.1.3. El revelado de trazas latentes.

La dimensión del daño producido por las partículas pesadas sobre la superficie del detector no supera los 50 \AA de diámetro por lo que su visualización sólo es posible por medio de microscopía electrónica. Sin embargo, debido a la alta reactividad química del área dañada, es posible someter al polímero a un proceso de revelado capaz de ensanchar las trazas hasta que las mismas sean visibles a través de un microscopio óptico.

Uno de los métodos utilizados para magnificar el daño latente a

dimensiones observables se denomina *ataque químico* o *etching*. Este proceso consiste en someter al detector a una solución capaz de degradar la región dañada a mayor velocidad que la región intacta. La relación de velocidades de acción debe favorecer a la formación de trazas sobre la trayectoria de las partículas.

Las cadenas carbonadas libres de las regiones dañadas del detector polimérico son particularmente sensibles a los grupos OH⁻ de las soluciones alcalinas. Estas son capaces de hidrolizar las uniones tipo éster de los carbonatos y desintegrar a las regiones debilitadas con mayor velocidad que al polímero no dañado. Por este motivo es que para el revelado de las trazas latentes se suele emplear soluciones alcalinas como los hidróxidos de sodio y de potasio en concentraciones de 1 a 12 M y a temperaturas que varían desde los 40 a los 70°C. El tamaño final de las trazas también depende del tiempo de exposición a la solución por lo que se debe limitar de modo que el ensanchamiento desmedido no produzca que las trazas se superpongan.

4.1.4. El conteo de trazas y análisis cuantitativo de la concentración de boro.

La magnitud que permite caracterizar cuantitativamente la concentración de boro ¹⁰ de una muestra mediante autorradiografía es la densidad de trazas. Esta magnitud consiste en el número de trazas por unidad de área del detector. El promedio de este valor en un área representativa del mismo presenta una relación lineal con la concentración del isótopo que se pretende

cuantificar. Como fue mencionado, la función que gobierna dicha relación se obtiene a partir de la construcción de una curva de calibración utilizando muestras patrón con concentraciones de boro conocidas.

Para determinar la densidad de trazas en un detector revelado se toma una serie de fotos de microscopía digital de regiones representativas de la imagen autorradiográfica global. Tanto el campo lumínico como el foco del microscopio se deben ajustar para que las trazas producidas por las partículas pesadas se vean con claridad. La elección adecuada de estos parámetros también permite minimizar el fondo de artefactos causados por suciedad o marcas indeseables asociadas a la manipulación de los detectores.

Las imágenes de microscopía se analizan utilizando un programa de procesamiento digital capaz de detectar las trazas y clasificarlas según su tamaño y su redondez. La densidad de trazas global se obtiene de dividir el número de trazas promedio detectado en el conjunto de imágenes representativo de la muestra por el área de cada una de ellas.

4.2. Problemáticas asociadas a tejidos duros.

Los procedimientos descritos anteriormente han sido ampliamente estudiados para determinar la concentración de boro en tejidos biológicos blandos. Debido a su constitución estructural, este tipo de tejidos pueden seccionarse en láminas muy delgadas utilizando un crióstato convencional.

El crióstato es una herramienta de laboratorio que consiste en un recinto compacto y cerrado capaz de mantener su temperatura por debajo de los $0^{\circ}C$. Dentro del recinto se dispone una hoja afilada y un porta muestras móvil. Un sistema mecánico permite regular la distancia a la que el porta muestras se desliza sobre la hoja afilada para determinar el espesor de corte con una precisión cercana al micrón. La muestra biológica previamente conservada en estado de congelación se adhiere a la platina móvil mediante una gota de agua que se cristaliza por efecto de la temperatura.

En la práctica, la muestra biológica seccionada se deposita sobre el detector polimérico dentro del recinto frío y se extrae para que la temperatura del sistema muestra-detector alcance el equilibrio con el medio ambiente. El proceso de descongelación acelerado produce la evaporación del contenido líquido de la muestra y la contracción del volumen logra que se adhiera firmemente a la superficie del detector.

En el caso de los tejidos duros como los huesos y las piezas dentales, el filo del crióstato convencional no es lo suficientemente fuerte para ejecutar cortes delgados. Cualquier tipo de esfuerzo físico sobre esta clase de muestras provoca que las mismas se quiebren o astillen.

La imposibilidad de obtener muestras delgadas de tejidos duros mediante la técnica de corte convencional limita la implementación de la autorradiografía neutrónica clásica. En este trabajo se estudia el problema en profundidad y se elabora una solución práctica a esta limitación.

4.3. Propuesta de extensión.

El primer enfoque para abordar la extensión de la técnica de autorradiografía neutrónica en muestras de tejido duro provino de estudiar las técnicas de corte utilizadas en histología. Al igual que para la autorradiografía, la observación de la estructura de los huesos por microscopía requiere la obtención de cortes delgados de tejido de modo que las muestras no bloqueen la totalidad de la luz del microscopio.

El procedimiento empleado para obtener muestras de tejido duro aptas para estudios histológicos consiste en someterlas a un proceso químico de descalcificación que ablanda la muestra y permite cortarla con los métodos de corte convencional. Los procesos de descalcificación remueven el calcio de la estructura ósea comprometiendo su rigidez. Para este trabajo se ensayaron cuatro protocolos de descalcificación distintos y en todos ellos se registró una pérdida completa del contenido de boro de la muestra. Si bien los protocolos permitieron obtener cortes delgados empleando un crióstato convencional, la pérdida de boro interfiere con la determinación de su concentración.

La segunda alternativa propuesta consiste en generar láminas delgadas de hueso por desgaste mecánico. Este tipo de procedimientos permite obtener muestras de espesores del orden de los $100\ \mu m$. A pesar de no alcanzar la delgadez de las muestras de tejidos blando cortadas con crióstato, su espesor no interfiere con el flujo neutrónico de la técnica de determinación de boro. Además, a diferencia de las técnicas de descalcificación química, el desgaste

mecánico permite que la concentración de boro 10 de la muestra se conserve y pueda ser medida con exactitud.

Para completar la implementación de la técnica de autorradiografía es necesario construir la curva de calibración a partir de muestras patrón con concentraciones de boro conocidas. Para emular los homogenatos de tejidos blandos se propone la utilización de polvo de hueso embebido en soluciones de ácido bórico de distintas concentraciones. El polvo de hueso se obtiene empleando el mismo proceso de desgaste mecánico utilizado para generar las láminas delgadas.

4.4. Materiales y métodos.

4.4.1. Estudios preliminares.

El contenido de calcio de los huesos les confiere la dureza mineral que los caracteriza. Debido a esta propiedad, obtener láminas delgadas por métodos de corte convencionales requiere someter la pieza de tejido duro a un procedimiento químico que remueva el calcio. De este modo, las muestras podrían ser fácilmente analizadas utilizando la metodología previamente desarrollada para tejidos blandos [63, 33].

Los métodos de descalcificación consisten en exponer las muestras a soluciones capaces de atacar químicamente la matriz mineral del hueso removiendo el calcio. En general las soluciones actúan a través de mecanismos

de sustitución elemental o de debilitamiento de enlaces. Dentro de los distintos tipos de soluciones descalcificadoras se pueden distinguir las soluciones ácidas y las soluciones quelantes.

Entre las fibras de colágeno de los huesos se encuentra el mineral de fosfato de calcio, también conocido como hidroxiapatita. El mecanismo general de descalcificación consiste en desestabilizar el equilibrio químico que mantiene al mineral enlazado. Los ácidos aportan hidrógenos y eliminan iones hidroxilos de la matriz induciendo la solubilización del mineral. Los agentes quelantes, en cambio, son sustancias orgánicas capaces de unirse covalentemente a iones metálicos formando un compuesto soluble llamado quelato de metal. Este tipo de sustancias interactúan con los iones de calcio de los cristales de hidroxiapatita disminuyendo progresivamente su tamaño.

Para este trabajo se pusieron a prueba tres protocolos de descalcificación que suelen utilizarse para el estudio histológico de tejidos óseos. Tres de ellos involucran soluciones ácidas y uno está basado en una solución quelante.

Las soluciones ácidas estudiadas fueron:

- Ácido clorhídrico (1.8 %) + ácido fórmico (4.75 %)
- Ácido nítrico (6.5 %)
- Ácido nítrico (7.5 %) + formol (5 %)

Por otra parte, la solución quelante utilizada fue:

- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTANa 0.5 M) + hidróxido de sodio (NaOH pH=8.5)

Las soluciones se probaron en muestras de fémur de oveja provenientes de estudios de biodistribución animal de boronfenilalanina (BPA). Durante este procedimiento, el ovino es infundido por vía intravenosa por 45 minutos con 350 mg/Kg de compuesto borado [78]. *Post-mortem*, el fémur se extrae y se conserva congelado hasta el momento de su utilización.

Para dar inicio al experimento se descongeló el fémur y se le quitaron todos los restos de tejido blando circundante. Luego se utilizó una sierra de mano para cortarlo en porciones de 2 x 2 cm, lo suficientemente pequeñas para que quepan en tubos falcon. Las piezas pequeñas se sumergieron en cada una de las soluciones descalcificantes y se apartaron muestras a modo de control. Adicionalmente se incorporaron al experimento muestras control proveniente de un fémur de oveja sin boro.

En 24 horas de acción, los huesos tratados con los tres protocolos basados en soluciones ácidas, adquirieron una consistencia similar a la del tejido blando. Por su parte, la solución quelante requirió 3 semanas para debilitar el hueso hasta que pudo ser cortado con un crióstato convencional.

A medida que las muestras adquirían la consistencia deseada los procesos de descalcificación se fueron interrumpiendo. Los huesos resultantes se digirieron en ácido nítrico para medir su concentración de boro por ICP-OES junto a las muestras control y a las soluciones sobrenadantes.

Los resultados de las mediciones de boro mostraron que el fémur de oveja sin infundir tiene una concentración de boro 10 natural que no supera la parte por millón (*ppm*). Las muestras control infundidas, por su parte, captaron alrededor de 8 *ppm* de boro 10. Dicha cantidad es comparable con la captación en sangre del mismo animal. Las muestras descalcificadas presentaron concentraciones de boro por debajo del límite de detección, mientras que en todos los sobrenadantes se encontró el total de boro desprendido de las muestras sumergidas.

Esta experiencia preliminar comprobó que las soluciones descalcificantes son capaces de debilitar la matriz mineral del hueso al punto de que el mismo puede ser cortado en láminas delgadas de la misma manera que un tejido blando. Sin embargo, la migración total del contenido de boro desde la muestra hacia la solución es inevitable e interfiere con la posterior determinación de sus concentraciones mediante la técnica de autorradiografía.

Aprovechando la generación de láminas delgadas de hueso descalcificado se estudió la posibilidad de utilizarlas como absorbentes de soluciones boradas. De ser posible, la autorradiografía de este tipo de muestras sumergidas en soluciones de concentración de boro conocida sería potencialmente útil para la conformación de una curva de calibración. Sin embargo, los ensayos realizados mostraron que la absorción no se produce de manera uniforme a lo largo y ancho de la superficie de la lámina delgada de hueso descalcificado. Este tipo de inhomogeneidades de absorción no son adecuadas para la generación de patrones y complican el conteo microscópico de trazas. Por estos motivos esta opción también quedó descartada.

4.4.2. Desgaste mecánico y generación de polvo de fémur.

Para el desgaste mecánico de las muestras de hueso se construyó un dispositivo experimental que permite manipular el proceso de forma práctica y segura. Dicho dispositivo se compone de tres partes principales: un soporte que sujeta un torno eléctrico a 45° de la superficie de trabajo, un porta muestras móvil que permite desplazar la muestra horizontalmente sobre la herramienta del torno y un arreglo de contenedores plásticos que recolecta el polvo de hueso generado por el desgaste.

El torno eléctrico se equipó con un disco giratorio metálico que posee una delgada cobertura de diamante en polvo. Además de contar con la dureza necesaria para desgastar el hueso, el disco diamantado no contamina la muestra con elementos que podrían interferir con la medición de boro. En comparación a otro tipo de herramientas de desgaste, la sierra utilizada consigue el poder abrasivo requerido a velocidades de giro más bajas. De este modo se logró mantener la temperatura de operación del sistema en valores inferiores a aquellos que comprometen la integridad del hueso.

El porta muestras móvil admite piezas de fémur previamente cortadas en rectángulos de 2 cm de lado. Este tipo de recortes posee una curvatura natural propia de la geometría del tipo hueso utilizado. El dispositivo permite realizar movimientos controlados de modo que la muestra pueda presionarse horizontalmente sobre la superficie del disco giratorio.

La presión aplicada sobre la sierra se realizó en repetidos intervalos breves evitando así que la temperatura arruine la muestra. El espesor se controló con un calibre digital y se repitió el proceso hasta alcanzar los $100\ \mu m$ de forma aproximada. Finalmente, las muestras delgadas se soplaron cuidadosamente con aire comprimido filtrado para eliminar el polvo propio del desgaste y se conservaron en un recipiente cerrado a temperatura ambiente. El polvo recolectado durante el desgaste se retiró del dispositivo y se conservó en las mismas condiciones.

4.4.3. Contenedores de policarbonato.

Debido a su disponibilidad en el mercado, la buena relación de calidad y precio y su sencilla manipulación, los detectores de trazas nucleares de policarbonato cumplen con los requisitos necesarios para ser utilizados en la aplicación de autorradiografía para tejidos duros. La materia prima empleada para su fabricación fue patentada por General Electric bajo el nombre de Lexan y se sintetiza en forma de resina que posteriormente puede ser moldeada en distintos formatos. En autorradiografía suelen utilizarse films de Lexan de $250\ \mu m$ de espesor. Los mismos pueden ser recortados fácilmente con una tijera convencional.

Durante la irradiación, las muestras medidas deben estar en íntimo contacto con el detector. Por este motivo, el film de Lexan funciona simultáneamente como detector y como porta muestras. Las láminas delgadas de hueso se adhirieron a la superficie del policarbonato sujetando sus

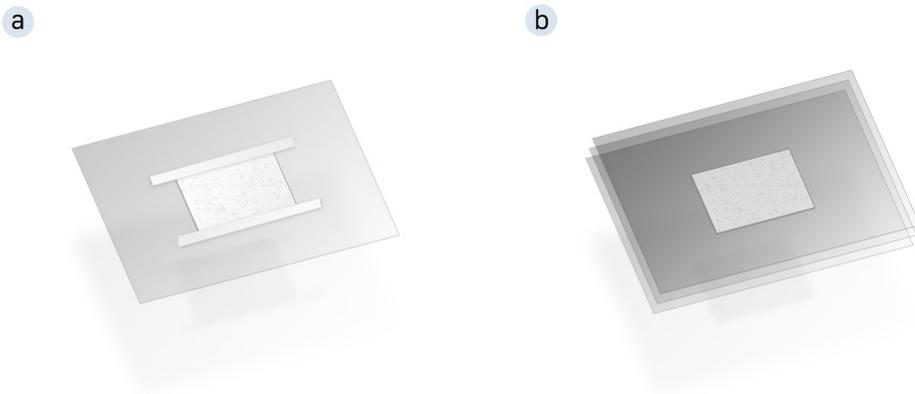


Figura 4.1: Porta muestras detectores de Lexan: (a) Lámina delgada de hueso. (b) Contenedor de hueso en polvo.

extremos con una tira angosta de cinta de enmascarar (figura 4.1.a). Para las muestras de hueso en polvo, en cambio, se fabricó un contenedor capaz de alojarlas sin que se produzcan filtraciones.

Se diseñaron pequeñas cajas conformadas por una pila de tres films de Lexan de $3 \times 3 \text{ cm}$ (Figura 4.1.b). En el film central se cortó y retiró un cuadrado de 1 cm de lado generando una ventana. Las dos primeras láminas de la pila se unieron entre ellas utilizando cloroformo. Este compuesto químico actúa como disolvente de la superficie de Lexan provocando que aquellas que están en contacto se adhieran de forma permanente[63]. Por último se relleno la cavidad con la muestra de polvo de hueso y una vez retirado el excedente se selló el paquete con la lamina superior. Este procedimiento se realizó con el cuidado de que las muestras no se contaminen con cloroformo.

Para optimizar el proceso de medición las muestras se agruparon en una plancha adicional de Lexan de 9 x 13 cm. Dicho tamaño corresponde al espacio máximo disponible en la facilidad de la fuente de neutrones donde se realizó la irradiación.

4.4.4. Irradiación de muestras.

El proceso de irradiación de muestras se llevó a cabo en la facilidad biomédica del reactor RA-3 ubicado en el Centro Atómico Ezeiza (CAE) de la Comisión Nacional de Energía Atómica. El RA-3 es un reactor de pileta abierta que opera diariamente a 8 MW y se emplea para la producción industrial de radiofármacos. Cuenta con una facilidad que permite acercar muestras al núcleo del reactor. Dicho sistema permite exponer las muestras a un flujo isotrópico y uniforme de neutrones térmicos con una intensidad máxima de $(9 \pm 1) \times 10^9 \text{ n/cm}^2\text{s}$ [79].

Un canal de transporte debidamente blindado posibilita la inserción de las muestras en la columna térmica sin interrumpir el funcionamiento normal del reactor. Esta modificación fue originalmente motivada por el estudio de la aplicación de BNCT *ex-situ* que consiste en el autotrasplante parcial de órganos tratados por BNCT fuera del cuerpo del paciente [25, 78]. En la actualidad, además de dar continuidad a los estudios mencionados, la facilidad se utiliza tanto para investigaciones radiobiológicas en células y animales pequeños como para la irradiación de muestras de autorradiografía.

El personal de operación del reactor recibió las planchas de Lexan con los

arreglos de muestras dispuestos sobre su superficie y las sujetó a la pared lateral de una caja de acrílico. Esta caja facilita la manipulación de las muestras y permite posicionarlas verticalmente frente a la columna térmica en un sector donde el flujo de neutrones es homogéneo.

El ingreso de las muestras se lleva a cabo por medio de un pistón mecánico que empuja la caja de acrílico hacia el núcleo del reactor. El movimiento coordinado del brazo móvil y los mecanismos de apertura posibilitan controlar el tiempo de exposición de las muestras. Para verificar la calidad del campo de irradiación se realizan mediciones de monitoreo utilizando un detector autoenergizado de neutrones (SPND). El mismo toma registros periódicos durante la irradiación para corroborar que la fluencia de neutrones se mantenga constante [79].

Si bien el tiempo total de irradiación de cada conjunto de muestras depende de la medición en tiempo real del monitor, en condiciones normales de operación, 1.5 minutos es tiempo suficiente para alcanzar la fluencia neutrónica requerida de 10^{12} cm^{-2} . Según la experiencia heredada de los protocolos para tejido blando, esta fluencia es suficiente para generar imágenes de autorradiografía con una densidad de trazas aceptable que permite cuantificar la concentración de boro [63].

4.4.5. Proceso de revelado de trazas latentes.

Para magnificar las trazas latentes se desmontaron los contenedores de las láminas grandes de Lexan y se desensamblaron las muestras. Los cortes

delgados de hueso se despegaron del detector mientras que en el caso de las cajas de polvo fue necesario recortarlas para poder retirar su contenido. En ambos casos se procuró minimizar el roce de las muestras sobre el detector para evitar que el mismo produzca daño en forma de rayas que pueda dificultar el conteo de las trazas. Las muestras delgadas y el polvo extraído de los contenedores se conservaron para medir su concentración de boro por el método de ICP-OES y comparar los resultados con aquellos obtenidos por autorradiografía.

En este caso, para el proceso de revelado de trazas se utilizó una solución de hidróxido de potasio conocida como PEW (30 g KOH + 80 g de alcohol etílico + 90 g de agua destilada [63]). Esta solución actúa con eficiencia al calentarla a 70°C. Para obtener el tamaño de traza adecuado para el conteo evitando superposiciones, se realizaron inmersiones de 2 minutos por muestra. Una vez retiradas de la solución las muestras se lavaron en agua y se dejaron secar a temperatura ambiente.

4.4.6. Conteo digital de trazas.

El conteo digital de trazas se realizó a partir de fotografías tomadas con un microscopio Carl Zeiss MPM 800 equipado con una cámara AxioCam MRc5 (Carl Zeiss). Este equipo posee una platina bidimensional motorizada que permite explorar la superficie del detector de forma controlada. La cámara digital del microscopio se opera desde un programa de adquisición que exporta las imágenes en formato TIFF a un directorio asignado por el

usuario. Las imágenes exportadas tienen un tamaño de 1288 x 964 píxeles, una resolución de 72 píxeles por pulgada y una profundidad de 8-bits en escala de grises.

Tanto la calidad como la utilidad de las fotografías tomadas depende de las condiciones lumínicas y del enfoque óptico sobre las muestras. Para que sean aceptables, en primer lugar se realizó una exploración operando el microscopio en modo de campo claro y ajustando la intensidad de la luz. Una vez que el contraste con el fondo permitió ver las trazas, se ajustó la distancia de la lente de modo que el punto focal se posicione sobre la superficie del detector y que las trazas se vieran con nitidez. Por último, se continuó aumentando la intensidad del campo lumínico para terminar de diferenciar las trazas del fondo.

Como la impronta de trazas es más grande que el campo de observación del microscopio, para cada muestra se tomaron varias fotografías de regiones elegidas al azar. Una vez determinada la densidad de trazas de cada una de estas regiones se calculó la densidad promedio con un error asociado a las variaciones en la distribución de trazas a lo largo de toda la muestra. La platina motorizada del microscopio permitió desplazar el cuadro de la cámara de manera exacta con una resolución de $1\ \mu m$.

Pese al cuidado adoptado, el movimiento involuntario producido durante la manipulación de las muestras ensambladas produjo marcas en los detectores que interfieren con la visualización de las trazas. Si bien este tipo de marcas está bien definido y se distingue por simple inspección, dificultan la

aplicación de algoritmos de conteo automático de trazas. Otro inconveniente experimental que afecta directamente a la calidad de las imágenes es la inhomogeneidad del campo luminoso del microscopio. Para resolver estos problemas se aplicaron dos filtros digitales. Tanto el acondicionamiento de la imagen como el conteo de trazas se realizó con un programa de procesamiento digital de imágenes llamado Image Pro Plus.

El Image Pro Plus es un programa de licencia comercial desarrollado para el análisis y manipulación de imágenes del ámbito de la ciencia. Posee herramientas de control de instrumentos periféricos de adquisición como cámaras y microscopios y un amplio catálogo de herramientas de procesamiento y automatización de trabajos.

Una vez abiertas la fotografías microscópicas en el programa de edición se utilizó la herramienta de selección de área para delimitar regiones donde no se observaban rayas. En los casos en los que esto no fue posible, preferentemente se seleccionaron regiones donde las rayas se diferenciaban de las trazas con facilidad. El área de la región seleccionada se registró para luego poder determinar el peso relativo de la densidad de trazas en el promedio general de la muestra.

A cada una de las regiones seleccionadas se les aplicó un filtro de umbral y un filtro de área de traza detectada. El filtro de umbral consistió en determinar el intervalo de valores de grises a los que correspondían las trazas y colocar todos los demás píxeles en blanco. Este filtro permitió separarlas del campo luminoso inhomogéneo del microscopio obteniendo así

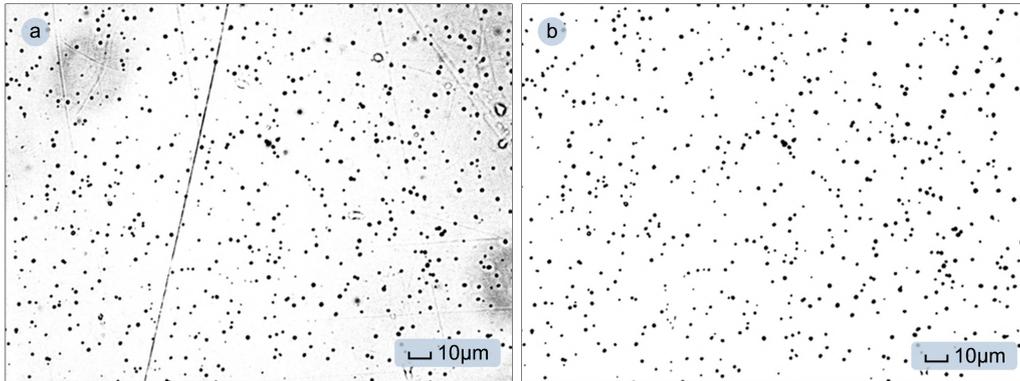


Figura 4.2: Fotografía microscópica de las trazas reveladas antes (a) y después (b) del proceso de filtrado digital.

una imagen compuesta de trazas definidas y de eventuales rayas. Por último, para eliminar las rayas, se utilizó un filtro de área de trazas detectadas. Este filtro se ejecuta en simultáneo con el algoritmo de detección de trazas. Durante el proceso de detección, el programa realiza una clasificación de los grupos de píxeles según su tamaño, nivel de gris y morfología. A partir de esta clasificación se pueden establecer condiciones para definir el umbral de detección. Utilizando un histograma de tamaños de trazas se determinó el valor límite a partir del cual la detección correspondía una traza verdadera. De este modo se garantizó que el resultado final reportado por el contador automático correspondiese solo a eventos asociados al daño producido por las reacciones de captura. La figura 4.2 muestra un ejemplo de la fotografía microscópica del detector antes y después de la aplicación de los filtros digitales.

Los errores aleatorios no sistemáticos se redujeron tomando varias fotos por muestra. En cada una de ellas se analizaron varias regiones rectangulares

de distintas dimensiones. Las densidades de trazas totales ρ de las muestras de área A_m se calcularon promediando las densidades parciales ρ_i de las regiones delimitadas de área A_i pesadas por un factor relativo a la proporción de muestra representada por la región (Ec. 4.1)

$$\rho = \sum_{i=1}^n \frac{A_i}{A_m} \rho_i. \quad (4.1)$$

4.4.7. Efecto de la superposición de trazas.

Como se introdujo anteriormente, el número de reacciones de captura de neutrones aumenta proporcionalmente al incrementar la concentración de boro presente en la muestra. Por este motivo también se produce un incremento del número de partículas pesadas capaces de producir trazas latentes en la superficie del detector. Durante el proceso de revelado, el ensanchamiento de trazas ocasiona que puntos de daño cercanos se unan formando una única traza observable. A medida que aumenta la concentración de boro la probabilidad de que esto ocurra también aumenta.

La superposición de trazas es un fenómeno que afecta directamente a la precisión de las mediciones autorradiográficas de muestras de concentraciones de boro altas. Esto se debe a que el algoritmo de conteo automático es incapaz de diferenciar trazas individuales de trazas superpuestas subestimando la densidad total. Para estudiar el efecto de este fenómeno se diseñó un algoritmo capaz de generar imágenes digitales con las mismas características

de las imágenes autorradiográficas.

En primer lugar se tomaron imágenes de autorradiografía de muestras de concentración de boro bajas y, utilizando el programa de detección automática, se clasificaron las trazas según su tamaño. Esto permitió construir un histograma realista del tipo de trazas que se generan en las condiciones experimentales descritas. El histograma construido se utilizó como función de probabilidad para elegir aleatoriamente el tamaño de las trazas generadas digitalmente. Luego, se muestreó aleatoriamente la posición de la traza en cada una de las dimensiones de la imagen considerando una distribución espacial uniforme. Este bucle de generación se repitió para cada una de las trazas generadas.

Utilizando el algoritmo generador, se crearon imágenes de 50, 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000 y 3000 trazas. Por cada una de estas cantidades se construyeron 10 imágenes distintas del mismo tamaño que las imágenes de microscopio adquiridas experimentalmente. La aleatoriedad del proceso de construcción no previene la superposición de modo que a medida que aumenta el número de trazas totales este fenómeno se vuelve más evidente. En la figura 4.3 se puede observar cómo la imagen generada digitalmente (b) es prácticamente indistinguible de una fotografía microscópica de la autorradiografía de una muestra verdadera (a).

Por medio del Image Pro Plus se determinó la densidad promedio de los grupos de las imágenes creadas digitalmente. Cabe mencionar que al ser imágenes generadas artificialmente los procesos de filtrado no fueron

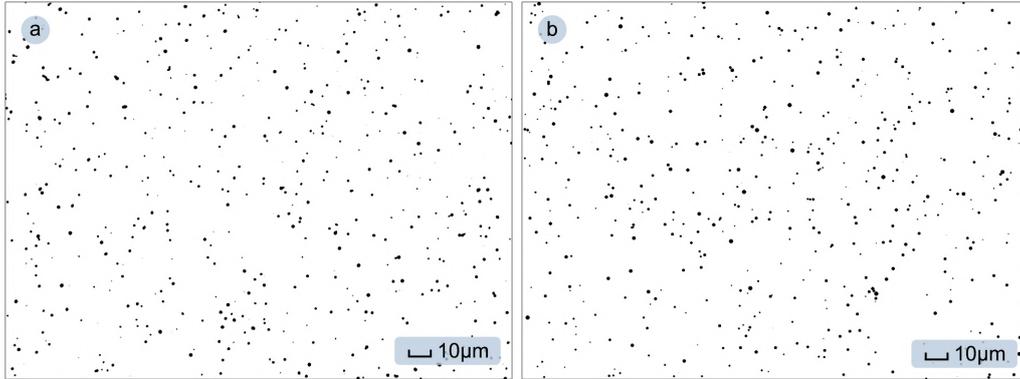


Figura 4.3: (a) Fotografía microscópica de autorradiografía de 550 trazas. (b) Imagen de 550 trazas generada digitalmente.

necesarios. La figura 4.4 muestra la relación entre el número de trazas generadas y el número promedio de trazas detectadas en función del número de trazas generadas. Se puede observar una clara relación cuadrática que permite ajustar una función para extrapolar la tendencia a cualquier número de trazas generadas.

La función ajustada $C_{sup}(\rho_i)$ permite corregir la subestimación de trazas detectadas producida por la superposición para cualquier muestra medida. De este modo, la densidad total de trazas de una muestra queda definida por la ecuación 4.2

$$\rho = \sum_{i=1}^n C_{sup}(\rho_i) \frac{A_i}{A_m} \rho_i. \quad (4.2)$$

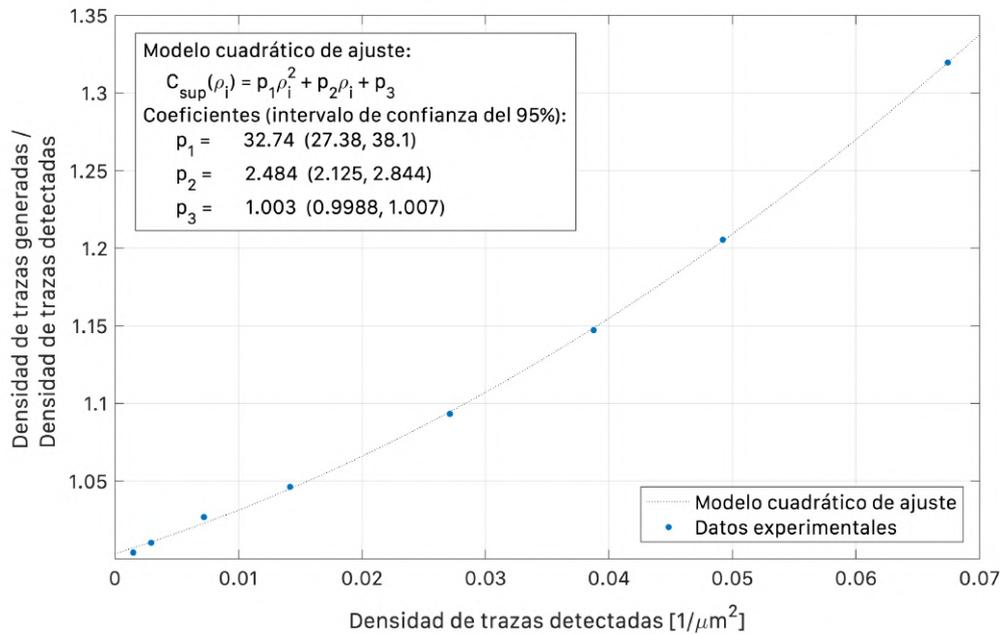


Figura 4.4: Relación funcional entre el número de trazas generadas y el número promedio de trazas detectadas.

4.4.8. Construcción de patrones borados y curva de calibración.

Una vez determinado el procedimiento adecuado para cuantificar la densidad de trazas de las imágenes autorradiográficas se implementaron las técnicas desarrolladas para construir una curva de calibración. Esta curva permite traducir la densidad de trazas en el valor absoluto de la concentración de boro de la muestra. Dado que la relación entre ambas magnitudes es lineal, la construcción de la curva consiste en:

1. Fabricar muestras patrón con concentraciones de boro conocidas.

2. Determinar la densidad de trazas de las imágenes autorradiográficas generadas a partir de cada muestra patrón.
3. Ajustar una recta que interpole los resultados experimentales.

La fabricación de las muestras patrón de hueso se llevó a cabo utilizando dos fémures de oveja provenientes de animales diseccionados en entrenamientos quirúrgicos. Mediante la técnica de desgaste desarrollada para este trabajo se generaron 11 muestras de polvo. Cada una de las muestras se colocó en un recipiente diferente donde luego se incorporaron distintas diluciones de ácido bórico. Asumiendo que la densidad de la solución acuosa de ácido bórico es 1 g/cm^3 , la concentración final de boro de cada una de las muestras patrón $[^{10}\text{B}]_{pat}$ puede calcularse según la ecuación 4.3, donde m_{ab} corresponde a la masa de la solución de ácido bórico, m_{ph} a la masa de polvo de hueso y $[^{10}\text{B}]_{dil}$ a la concentración de boro planificada para de la muestra

$$[^{10}\text{B}]_{pat} = m_{ab} * [^{10}\text{B}]_{dil} / m_{ph}. \quad (4.3)$$

Cada una de las muestras se generó a partir de 0.5 g de polvo y un 1 ml de dilución de ácido bórico. La tabla 4.1 muestra las diluciones que fueron necesarias para generar los patrones de la curva.

Los recipientes se dejaron reposar en una campana de vacío durante 24 horas a temperatura ambiente. En estas condiciones, el agua de las diluciones de ácido bórico se evaporó en su totalidad y todo el boro quedó depositado

Muestra	$[^{10}B]_{pat}$ [ppm]	$[^{10}B]_{dil}$ [ppm]
00	0	0
01	5	2.5
02	10	5
03	15	7.5
04	20	10
05	30	15
06	40	20
07	50	25
08	60	30
09	80	40
10	100	50

Tabla 4.1: Diluciones de ácido bórico requeridas para la generación de patrones.

en el polvo remanente. Este último, al perder su contenido líquido, formó pequeñas aglomeraciones sólidas que fue necesario volver a convertir en polvo utilizando un mortero mecánico.

Parte del polvo generado se separó para verificar su concentración de boro mediante ICP-OES. El resto se ensambló en los contenedores de policarbonato para generar las autorradiografías.

Las muestras se irradiaron en la columna térmica del reactor RA-3 hasta alcanzar una fluencia neutrónica de 10^{12} cm^{-2} . Los contenedores irradiados se desensamblaron para retirar el polvo y los detectores se sometieron al proceso de ataque químico. Una vez reveladas las trazas latentes se tomaron las fotografías microscópicas y se determinó la densidad de trazas de cada una de las muestras.

4.4.9. Simulaciones computacionales.

Los resultados obtenidos se contrastaron con simulaciones estocásticas del proceso de formación de trazas. Las simulaciones se realizaron a partir del modelo Monte Carlo propuesto por Saint Martin et al. (2011)[80]. Este modelo es capaz de estimar el número de trazas producidas en un detector de un material determinado a partir de una muestra contenedora de átomos de boro 10.

El programa requiere de ciertos datos nucleares propios del detector para realizar la simulación de la formación de trazas. Para este trabajo en particular fue necesario determinar el *poder de frenado* de partículas alfa y de iones de litio en tejido óseo. Típicamente esta propiedad se mide a partir de experimentos de transmisión. Sin embargo, debido a la dificultad que representa obtener muestras delgadas de tejidos duros, se optó por utilizar el programa SRIM [81]. Este código permite de calcular el rango de partículas a partir de la composición elemental del material de transporte.

La composición elemental del fémur se determinó experimentalmente utilizando la técnica PIXE [82]. Esta técnica se llevó a cabo en el acelerador Tandem NEC 5SDH, 1.7 MV del departamento de colisiones del Centro Atómico Bariloche. Los detalles del experimento de caracterización elemental se describirán en el capítulo siguiente.

A partir de la composición elemental determinada se empleó el programa SRIM para calcular el *poder de frenado* y este último se utilizó en el código

Monte Carlo para simular la formación de trazas en una lámina de Lexan. Se realizó una simulación por cada una de las concentraciones de boro de las muestras patrón. Las densidades de trazas simuladas se compararon con sus correspondientes experimentales.

4.5. Resultados y discusión.

El polvo de hueso demostró ser una alternativa viable para reemplazar el uso de muestras delgadas en la construcción de la curva de calibración. Su manipulación técnica resultó ser práctica y reproducible utilizando herramientas de laboratorio sencillas. Además, el tiempo de implementación de la técnica es comparable con el requerido para la medición de muestras de tejido blando.

A pesar de que la eficiencia en la recolección de polvo durante el proceso de desgaste del fémur es baja, el protocolo propuesto permite producir suficiente material para realizar mediciones a partir de una muestra de hueso de tamaño razonable. Para comprobar que el proceso de desgaste mecánico no influye en el contenido de boro de las muestras se realizaron mediciones de ICP-OES de la concentración de boro de muestras compactas y de los polvos de hueso provenientes de ovejas infundidas con boro 10. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.2.

Mediante mediciones de ICP-OES se verificó que el proceso de desgaste no afecta la concentración de boro original de la muestra compacta. En la

Muestra	$[^{10}B]$ hueso compacto [ppm]	$[^{10}B]$ hueso en polvo [ppm]
A	0.44 ± 0.04	0.42 ± 0.03
B	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0.1
C	3.3 ± 0.3	3.6 ± 0.3
D	4.3 ± 0.3	5.5 ± 0.5

Tabla 4.2: Comparación de concentración de boro 10 medido por ICP-OES en hueso compacto y hueso en polvo.

tabla 4.2 se puede observar cómo coinciden las concentraciones del hueso compacto con su correspondiente polvo teniendo en cuenta las incertezas experimentales. Si bien se observó una leve diferencia para la muestra D, más adelante se mostrará que la misma es imperceptible utilizando la técnica de autorradiografía.

El contenido de boro 10 de las muestras patrón también se verificó a partir de mediciones de ICP-OES para validar el cálculo de la concentración nominal teórica. Dichas mediciones se corrigieron restando una concentración de 0.5 ppm de boro de fondo determinada en mediciones adicionales de polvo de hueso sin ningún tipo de tratamiento. La figura 4.5 muestra cómo las concentraciones medidas coinciden con las nominales a lo largo del rango estudiado.

A partir de los patrones generados con polvo embebido en distintas concentraciones de ácido bórico se construyó la curva de calibración necesaria para emplear la técnica de autorradiografía en tejido óseo. En la figura 4.6 se puede observar la relación lineal entre la densidad de trazas cuantificada y la concentración de boro nominal de cada una de las muestras patrón. En

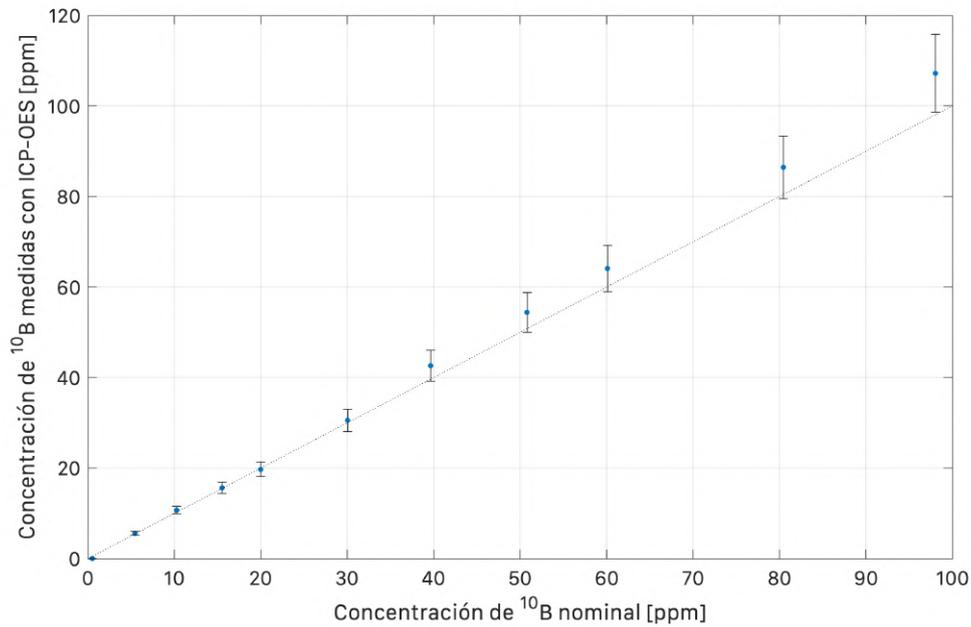


Figura 4.5: Verificación del contenido de boro 10 de las muestras patrón con ICP-OES

el mismo gráfico se puede observar la clara coincidencia con los resultados obtenidos en las simulaciones estocásticas. Un sencillo ajuste lineal permite extrapolar la tendencia de los resultados experimentales a un rango continuo.

La curva de calibración obtenida provee información de la concentración de boro asociada a densidades de trazas entre 0 y $0.045 \text{ trazas}/\mu\text{m}^2$. De acuerdo a la figura 4.4, para los valores más altos, la corrección por superposición apenas alcanza valores entre el 15% y el 20%. Sin embargo, el rango de densidades de trazas está asociado a la fluencia de neutrones elegida para irradiar las muestras de este estudio en particular. Para usos de la técnica que requieren de fluencias órdenes de magnitud más altas [63], la corrección de detección por superposición de trazas adquiere mayor relevancia.

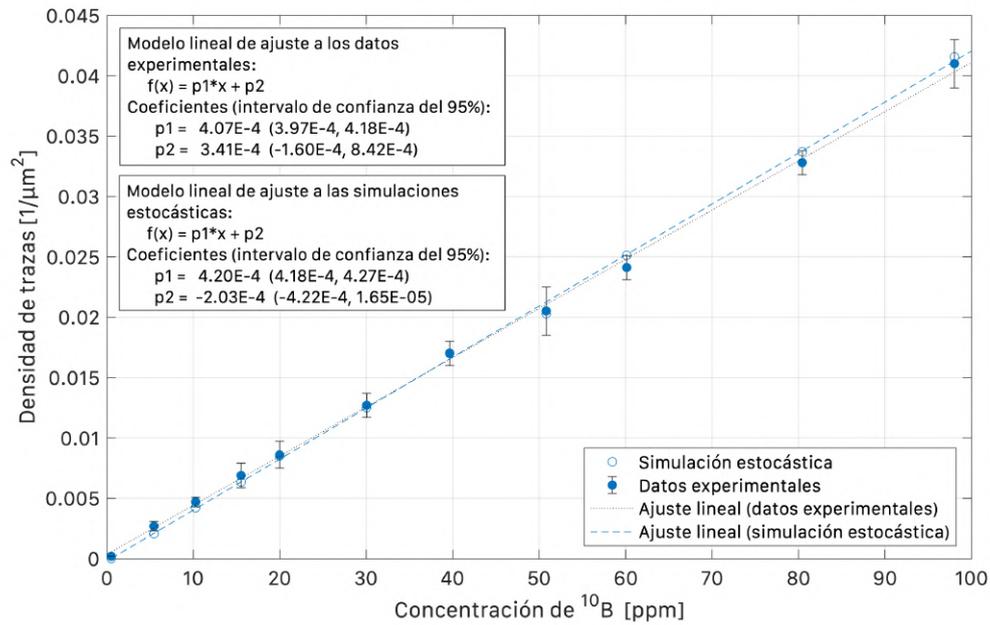


Figura 4.6: Curva de calibración para autorradiografía de huesos comparada con resultados obtenidos de simulaciones estocásticas.

Finalmente, la técnica de autorradiografía desarrollada para determinar la concentración de boro en tejidos duros se puso a prueba en muestras de hueso provenientes de distintos estudios de biodistribución. Se llevaron a cabo mediciones tanto en muestras de polvo de hueso como en láminas delgadas generadas por desgaste mecánico. Los resultados obtenidos comparados con mediciones de ICP-OES se muestran en la tabla 4.3. Los valores de ICP-OES corresponden al promedio de los resultados reportados en la tabla 4.2 asumiendo igualdad entre el polvo y el hueso compacto. El error asociado al promedio se obtuvo a partir de la aproximación de cuadrados mínimos [83].

Los resultados medidos por la técnica desarrollada en este trabajo

Muestra	^{10}B hueso compacto [ppm]	^{10}B hueso en polvo [ppm]	ICP-OES [ppm]
A	–	0.4 ± 2.1	0.43 ± 0.04
B	1.3 ± 2.1	1.0 ± 2.0	1.6 ± 0.2
C	3.6 ± 1.9	3.6 ± 1.9	3.5 ± 0.5
D	4.9 ± 1.9	5.2 ± 1.9	4.9 ± 0.4
E	10.9 ± 1.5	–	8.9 ± 0.7

Tabla 4.3: Concentración de boro [ppm] de muestras de fémur ovino medidas por autorradiografía neutrónica.

confirman que la concentración de boro medida en polvo coincide con la medida en las muestras delgadas. Para estos valores, la incerteza total reportada resulta de la suma cuadrática del desvío estándar en el conteo de trazas y el error nominal propio del proceso de interpolación de la curva de calibración. Como puede verse, la técnica de medición extendida para tejidos óseos permite medir concentraciones de boro mayores a 2 ppm . Esta resolución es comparable con la resolución de la técnica para tejidos blandos [84].

4.6. Conclusiones.

En los últimos años, desde que BNCT se considera una opción potencial para el tratamiento de osteosarcoma, numerosos estudios han comenzado a explorar el efecto de la terapia en tumores malignos que afectan principalmente a los huesos. Además, el tejido óseo también se encuentra presente alrededor de otros posibles blancos de tratamiento como el cáncer de cabeza y cuello. Esta cercanía puede ocasionar que durante el tratamiento

los huesos absorban dosis de radiación superiores a sus niveles de tolerancia, ocasionando efectos secundarios no deseados.

El estudio de la captación de compuestos borados es fundamental para entender y prevenir la eventual aparición de estos efectos. Debido a la composición elemental y a la estructura del tejido óseo, las técnicas de medición de boro desarrolladas para tejidos blandos pueden verse limitadas.

Este trabajo introduce por primera vez una extensión de la técnica de autorradiografía neutrónica para la determinación de boro 10 en muestras de tejidos duros. El desarrollo de la técnica implicó la construcción de una curva de calibración que demostró ser adecuada, no solo para medir muestras de hueso en polvo, si no que también permite estudiar muestras de hueso delgadas obtenidas por desgaste mecánico. Poder preservar la integridad histológica de la muestra delgada sin desintegrarla es esencial para complementar la cuantificación de boro con técnicas que permiten estudiar su microdistribución espacial.

Tanto los resultados obtenidos por simulaciones estocásticas como por otras técnicas de mediciones conocidas (ICP-OES) respaldan la validación de la curva de calibración construida.

El procedimiento técnico desarrollado para llevar a cabo las mediciones mostró ser relativamente sencillo y repetible. Los costos de implementación y los tiempos de ejecución son comparables con aquellos correspondientes a la técnica aplicada a tejidos blandos.

5

Espectrometría Alfa

El osteosarcoma es un tumor maligno e infiltrante cuyo tratamiento implica cirugías agresivas con un impacto negativo en la calidad de vida del paciente. Dadas sus grandes dimensiones y la presencia significativa de células hipóxicas, este tipo de tumor es particularmente resistente a esquemas convencionales de radioterapia de fotones. En los últimos años, BNCT ha sido estudiado como una opción terapéutica para esta patología debido a la posibilidad de direccionar el daño a las células malignas infiltradas favoreciendo así la conservación del tejido sano [51].

Como se mencionó anteriormente, el estudio de la dosimetría en BNCT requiere un conocimiento meticuloso de la distribución de los compuestos borados en los tejidos involucrados en el tratamiento. Dada la rigidez natural de los huesos, los métodos de medición de boro comúnmente empleados en clínica e investigación no pueden aplicarse sin antes resolver determinadas cuestiones técnicas.

En este capítulo se presenta una extensión de espectrometría alfa para

la determinación de boro 10 en huesos. Dicha extensión comprende la generación de muestras de hueso en el formato adecuado para la medición, la determinación de la composición elemental del hueso, el cálculo del poder de frenado de las partículas alfa y el desarrollo de una serie de simulaciones estocásticas que profundizan en el entendimiento de la técnica de medición estudiada.

5.1. Introducción.

5.1.1. Cuantificación de boro 10 en tejidos blandos.

La técnica de espectrometría alfa es un método nuclear de detección de emisores de partículas alfa. Una de las ventajas de esta técnica radica en el hecho de que permite conservar la integridad de las muestras medidas. En el caso de muestras biológicas las mismas se pueden volver a utilizar para estudiar su histología. La técnica de espectrometría alfa fue puesta a punto y validada por el grupo de BNCT de la Universidad de Pavia para la detección de boro 10 en tejidos blandos [85, 32].

En líneas generales el método consiste en la espectrometría de las partículas cargadas que se generan al irradiar con neutrones térmicos una muestra de tejido delgada posicionada frente a un detector de silicio en una cámara de vacío. Asumiendo que el tejido tiene una distribución de boro uniforme y es irradiado con un haz de neutrones térmicos uniforme, la reacción de

captura de neutrones se producirá a distintas profundidades desde las cuales se emitirán partículas en todas las direcciones.

El detector de silicio es un detector de estado sólido optimizado para la detección de partículas cargadas. El espectro resultante de la medición de la muestra de tejido blando irradiada con neutrones térmicos está compuesto principalmente por los protones de la reacción $^{14}\text{N}(n,p)^{14}\text{C}$ y por los iones de Litio y las partículas alfa de la reacción $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$. Si bien la radiación gamma de la reacción $^1\text{H}(n,\gamma)^2\text{H}$ no es detectada por el sistema, produce un leve ruido de fondo a bajas energías que puede eliminarse electrónicamente.

Cuando el espesor de la muestra es superior al rango de las partículas, aquellas que se originan a una profundidad inferior al rango pierden parte de su energía en el interior del tejido. Al salir de la muestra, vuelan libremente en vacío hasta la superficie del detector donde depositan sus energía residual. Por este motivo el espectro resultante no consta de picos bien definidos en las energías de origen de las partículas, si no que posee un perfil típico de espectro de absorción.

En este tipo de espectros las contribuciones de las distintas partículas se superponen en la mayor parte del rango de energía estudiado y no es posible distinguirlas. Casualmente, en el rango de energías comprendido entre los 1100 keV y los 1350 keV , los eventos detectados son solo partículas alfa. A partir de la relación entre la energía residual de estas partículas y la distancia recorrida en el tejido es posible calcular el volumen de muestra donde se originan. Esta información junto a la sección eficaz de captura neutrónica

en boro 10 y la eficiencia geométrica del dispositivo experimental, permite calcular la concentración de este isótopo en dicho volumen.

Dada una partícula alfa de energía inicial E_0 originada a una profundidad x_1 de la superficie del tejido, la energía residual E_{res} con la que la partícula abandona el tejido y es posteriormente detectada es:

$$E_{res}(x_1) = E_0 - \int_0^{x_1} \frac{dE}{dx} dx \quad (5.1)$$

Donde $\frac{dE}{dx}$ corresponde al poder de frenado de las partículas alfa en el tejido. En cambio, si la partícula se origina a una profundidad $x_1 + \Delta x$, la energía residual es:

$$E_{res}(x_1 + \Delta x) = E_0 - \int_0^{x_1 + \Delta x} \frac{dE}{dx} dx \quad (5.2)$$

En consecuencia, el intervalo de energía residual conformado por todas las partículas provenientes de Δx es:

$$\Delta E_{res} = \int_{x_1}^{x_1 + \Delta x} \frac{dE}{dx} dx \quad (5.3)$$

El número N de partículas alfa detectadas en el intervalo de energía comprendido entre $E_{res}(x_1)$ y $E_{res}(x_1 + \Delta x)$ depende del número de reacciones que ocurren en Δx . Por lo tanto, el número de eventos detectados K por intervalo de tiempo y por intervalo de energía se puede escribir como:

$$K = \frac{N}{\Delta E \Delta t} \quad (5.4)$$

Además, también se cumplen las siguientes igualdades:

$$\frac{K \Delta E}{\eta} = \frac{N}{\eta \Delta t} = \Sigma \Phi \Delta V = n \sigma \Phi \Gamma \Delta x \quad (5.5)$$

donde η es la eficiencia del detector, Σ y σ las secciones eficaces macroscópicas y microscópicas, respectivamente, de la reacción de captura neutrónica en boro 10 y Φ el flujo de neutrones en n/cm^2s con n el número de núcleos de boro 10 por unidad de volumen de la muestra. Γ y V corresponden a la superficie y el volumen de la muestra que el detector “ve” a través del colimador, respectivamente.

Asumiendo que no hay pérdida de boro durante el proceso de secado de la muestra, a partir de la ecuación 5.5 se puede demostrar que la concentración de boro 10 está dada por:

$$[^{10}B]_{ppm} = \frac{K}{\eta \sigma \Phi \Gamma} \frac{\Delta E}{\Delta(\rho x)} \frac{A_w}{N_A} \quad (5.6)$$

donde K es la integral del espectro entre 1100 keV y 1350 keV , $\frac{\Delta E}{\Delta(\rho x)}$ es el poder de frenado másico de las partículas alfa en la muestra, A_w es el peso atómico de la muestra y N_A es el número de Avogadro.

Si bien la mayoría de los parámetros de la ecuación 5.6 dependen del dispositivo experimental, $\frac{\Delta E}{\Delta(\rho x)}$ depende exclusivamente de la muestra. Dada

la variabilidad natural de la composición de los tejidos biológicos no es razonable usar datos tabulados en la bibliografía correspondientes a tejidos promedio para caracterizar esta magnitud. Por este motivo, el poder de frenado másico es necesario determinarlo empíricamente.

La puesta a punto de la técnica de espectrometría alfa para cuantificar boro en tejidos blandos se llevó a cabo por primera vez en tejido hepático [86]. Recientemente, este procedimiento fue optimizado para tejido pulmonar [85]. El estudio en pulmón requirió determinar la energía residual de las partículas alfa en función del espesor de pulmón. Para medir esta magnitud se realizó un experimento de transmisión empleando una fuente de americio 241 [87]. En este experimento se cortaron muestras de espesores menores al rango de las partículas alfa en el tejido pulmonar. De este modo fue posible detectar la energía residual luego de que la partícula atravesara muestras de distintos espesores y construir así la curva de poder de frenado.

5.1.2. Limitaciones de los tejidos duros y propuesta de extensión.

Como se mencionó en el capítulo anterior, a diferencia de los tejidos blandos, los tejidos duros son imposibles de seccionar en cortes micrométricos utilizando un crióstato convencional. Debido a su rigidez, este tipo de tejidos se astilla ante cualquier intento de esfuerzo mecánico que supere su resistencia al corte.

A diferencia de la autoradiografía, para implementar la espectrometría alfa en tejidos duros no es necesario hacerlo en muestras muy delgadas. Dados los procesos físicos involucrados en la medición, el único requisito es que el espesor de la muestra no perturbe significativamente el flujo de neutrones. De todas maneras se requiere de una técnica que permita determinar el poder de frenado prescindiendo de experimentos de transmisión en muestras delgadas. Esto se debe a que el rango en tejido oseo de las partículas alfa de la energía resultante de la captura neutrónica en boro es de apenas $7 \mu m$ y no es posible obtener muestras tan delgadas por métodos de corte convencional.

La extensión de la técnica de espectrometría alfa en tejidos duros consistió en la exploración de una alternativa para medir el poder de frenado a partir de la composición elemental de la muestra. Para ello también se estudió la influencia de la estructura porosa de los tejidos duros en dicha magnitud. Una vez determinadas todas las variables necesarias se implementó la técnica de espectrometría alfa en huesos de oveja provenientes de experimentos de biodistribución de boro 10. Los resultados se compararon con otras técnicas de medición y con resultados obtenidos a partir de simulaciones computacionales.

5.2. Materiales y métodos.

5.2.1. Determinación del poder de frenado de tejidos duros.

Como se expuso anteriormente, el poder de frenado másico es una magnitud fundamental para cuantificar boro 10 empleando la técnica de espectrometría alfa. Debido a la imposibilidad técnica de generar muestras delgadas para realizar los experimentos de transmisión que típicamente se emplean para medir esta magnitud, fue necesario recurrir a un método alternativo. Dicho método consistió en realizar simulaciones computacionales con el código de simulación SRIM [81].

SRIM es un conjunto de programas desarrollados para realizar cálculos asociados a la interacción de iones con la materia. Está basado en el método estocástico de aproximación por colisiones binarias que consiste en la selección aleatoria de parámetros de impacto de colisiones subsiguientes [88]. Este programa permite calcular el poder de frenado de distintos tipos de iones a partir de la composición elemental del medio en el que se transportan.

Si bien SRIM cuenta con una extensa librería de materiales estándar que incluye tejidos biológico, la variabilidad natural de la composición elemental de los huesos influye significativamente en el poder de frenado [89]. Por este motivo, para que los cálculos pertinentes a la extensión de la técnica de espectrometría alfa sean precisos, se determinó la composición material del hueso mediante la técnica de emisión de rayos X inducidos por partículas (PIXE).

La técnica PIXE consiste en excitar los electrones del material estudiado mediante el impacto de un haz de iones. A partir del espectro de los rayos X característicos resultantes de la posterior desexcitación de los átomos se puede inferir los elementos constituyentes y sus proporciones.

El experimento para determinar la composición elemental de las muestra de hueso se llevó a cabo en el acelerador Tandem NEC 5SDH de 1.7 MV del Centro Atómico Bariloche. Allí se midieron muestras de fémur de oveja de un espesor aproximado de 100 μm . Dichas muestras se obtuvieron desgastando pequeñas porciones de hueso con un torno de mano equipado con una sierra circular diamantada. Como se puede ver en la figura 5.1, la muestra delgada de hueso se posicionó dentro de una cámara de vacío y se irradió con protones de 2 MeV. Un detector de estado sólido Sirius SD se colocó a 33°C de la línea del haz de protones para medir los rayos X dispersados.

Para cuantificar la composición de la muestra a partir del espectro adquirido se utilizó el código GUPIX [90]. Este programa simula la generación de un espectro modulando las proporciones de los elementos involucrados hasta que el mismo coincida con el espectro obtenido experimentalmente.

Como la técnica de PIXE no es capaz de cuantificar con precisión aquellos elementos más livianos que el carbono, la fracción constituyente de hidrógeno se incorporó a partir de los valores correspondientes a un hueso estándar reportados en el ICRU 46 [91].

La composición medida se utilizó para configurar la simulación en SRIM

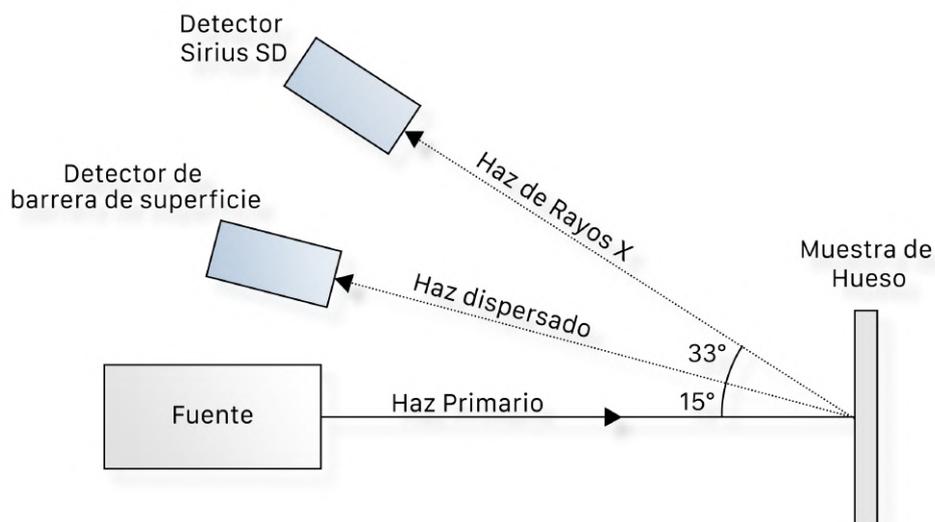


Figura 5.1: Instrumentación experimental para la determinación de la composición elemental del hueso de oveja.

a partir de la cual se obtuvo el poder de frenado de partículas alfa en tejido óseo.

5.2.2. Efecto de la inhomogeneidad estructural de los tejidos duros.

Para el cálculo de poder de frenado, el código SRIM asume que la estructura microscópica del material con el que interactúan las partículas es idealmente homogénea. En el caso particular del tejido óseo, como puede verse en la imagen microscópica de la figura 5.2, la densidad varía a lo largo de toda la muestra e incluso presenta orificios de distintos tamaños.

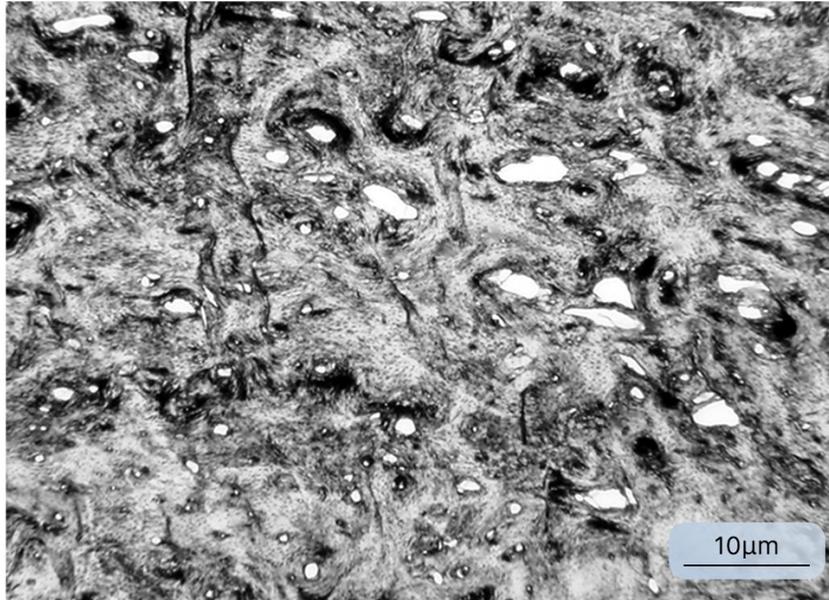


Figura 5.2: Imagen microscópica de muestra de hueso desgastada para espectrometría alfa.

En el trabajo publicado por Stella et al. (2009) donde se estudia la transmisión de partículas alfa en tejido pulmonar, se reporta que estas inhomogeneidades en la densidad producen un ensanchamiento de la energía residual de las partículas que atraviesan la muestra [87]. Sin embargo, como la energía media detectada en el espectro se conserva, el ensanchamiento no afecta a la determinación del poder de frenado.

A diferencia del tejido pulmonar, las variaciones de densidad en el tejido óseo son más abruptas. Para corroborar que esta particularidad no afecta a la determinación del poder de frenado se realizó un conjunto de simulaciones computacionales en MCNP. Estas simulaciones recrearon el experimento de transmisión de partículas alfa reportado en Stella et al. (2009) reemplazando

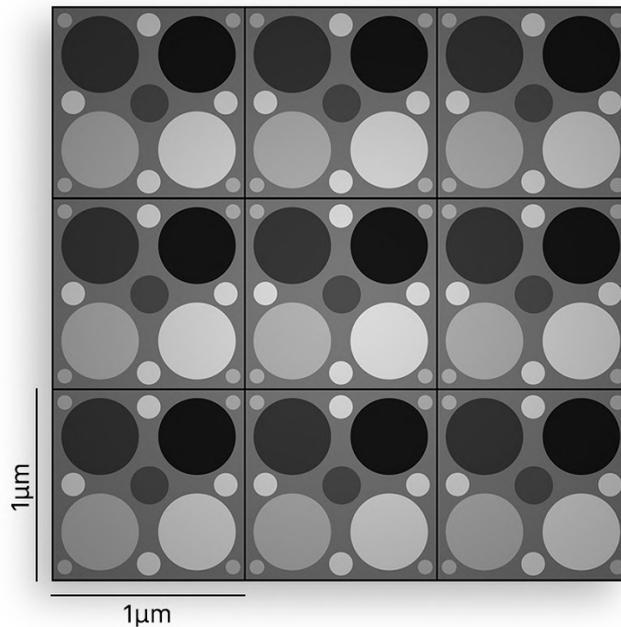


Figura 5.3: Modelo de muestra de hueso con distribución de densidad inhomogénea. Cada valor de gris representa una densidad distinta.

las muestras originales por muestras de hueso homogéneas e inhomogéneas de distintos espesores.

Las muestras inhomogéneas se modelaron a partir de un patrón cuadrado que se repitió a lo alto y largo de la muestra. Como se puede ver en la figura 5.3, cada unidad de este patrón tiene $1 \mu m$ de lado y posee un conjunto de cilindros embebidos de diferentes tamaños con distintas densidades que varían desde 0 a $5 g/cm^3$. En conjunto, la densidad promedio de cada unidad del patrón posee la densidad promedio del hueso real.

También se modeló la fuente de americio 241 reportada en el experimento original y un detector de silicio donde se registró la energía residual de

las partículas alfa luego de atravesar las muestras de distintos espesores. En total se estudiaron 5 muestras de densidad homogénea y 5 de densidad inhomogénea de 5, 10, 15, 20 y 25 μm de espesor. La composición material asignada a las muestras fue la que se midió experimentalmente por método PIXE.

Los resultados obtenidos se emplearon para construir la curva de energía residual en función del espesor másico para los dos tipos de muestras. Estas curvas también se compararon con los resultados obtenidos de las simulaciones con el código SRIM.

5.2.3. Determinación de la concentración de boro de muestras de hueso.

Una vez reunidos todos los requisitos necesarios se implementó la técnica de espectrometría alfa para medir el contenido de boro 10 en muestras de fémur de oveja. El experimento se realizó en el reactor TRIGA Mark II de la Universidad de Pavia, Italia. Este reactor posee una facilidad para la irradiación de muestras que permite entregar un flujo homogéneo de $2 \times 10^9 n/cm^2/s$ en la posición donde se aloja el dispositivo experimental que contiene las muestras.

Las muestras de fémur medidas se obtuvieron del modelo animal empleado en un estudio de factibilidad de tratamiento *ex-situ* de pulmón con BNCT que se llevó a cabo en Buenos Aires, Argentina [78]. Durante este estudio,

varias ovejas fueron infundidas por vía intravenosa con distintas dosis de borofenilalanina (BPA) enriquecido con boro 10 ($\geq 99\%^{10}B$). También se estudiaron muestras control de fémur sin boro provenientes de ensayos quirúrgicos sin mediar infusión del compuesto portador de boro.

Una vez retirados los restos de tejido muscular, los fémures se cortaron en pequeñas porciones de una sección aproximada de 1 cm^2 y se desgastaron con la sierra de disco diamantada hasta alcanzar un espesor de $100\ \mu\text{m}$. Las muestras delgadas se posicionaron dentro de una cámara de vacío en un porta muestras rotatorio. Este dispositivo permitió cambiar las muestras expuestas al haz de neutrones del reactor de forma secuencial y remota.

Los cortes delgados de tejido blando se adhieren a los porta muestras de mylar al perder su contenido líquido por evaporación. En el caso de las muestras de fémur, su rigidez característica permite que se sostengan por sí solas dentro del contenedor sin necesidad de un soporte adicional. A pesar de que en este caso en particular el mylar no cumple ninguna función, se mantuvo en el dispositivo para no alterar las condiciones experimentales originales.

La primera adquisición consistió en el espectro resultante de la irradiación de una posición del porta muestras ocupada únicamente por un film de mylar. Los eventos detectados se deben a los protones generados en la interacción de los neutrones con el nitrógeno del aire residual de la cámara de vacío. Este espectro sirvió de fondo para sustraer de las demás mediciones aquellos eventos que no corresponden a interacciones nucleares con la muestra

biológica.

En segundo lugar se irradió una posición del porta muestras ocupada por un patrón de densidad superficial de átomos de boro 10 conocida provisto por el National Institute of Standards and Technology (NIST). Este patrón consiste en un disco de silicio con un delgada lámina implantada de boro 10 que al ser irradiada produce un espectro no absorbido con picos en las energías características de las partículas alfa y del litio. El espectro obtenido se utilizó para calibrar los canales del detector multicanal de acuerdo a las posiciones de los picos de energía conocidos. La integral del espectro también permitió determinar el flujo de neutrones en la posición de la muestra irradiada.

Por último, se adquirieron los espectros de cada una de las muestras incógnitas. A cada uno de ellos se le sustrajo el fondo medido en la primera adquisición y se lo integró en el rango de energía comprendido entre 1100 *keV* y 1350 *keV* para cuantificar el boro 10 de acuerdo al procedimiento explicado anteriormente.

5.2.4. Cálculo de espectros de energía de partículas alfa en tejidos duros mediante métodos estocásticos.

Para profundizar en el entendimiento acerca de la formación del espectro de energía residual de las partículas alfa se simuló el experimento de medición empleando métodos estocásticos. Para ello se programaron simulaciones con

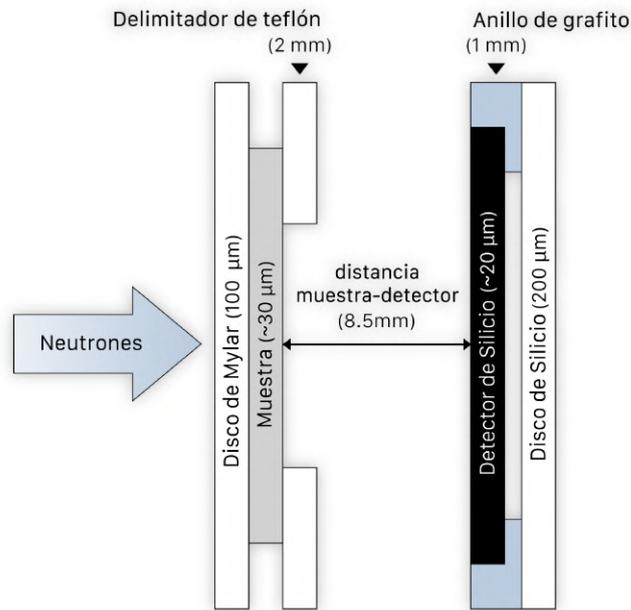


Figura 5.4: Esquema lateral del modelo utilizado para simular la medición del contenido de boro 10 de muestras de tejido duro con MCNP.

el código MCNP del dispositivo experimental que se puede ver en la figura 5.4.

En vez de simular la irradiación de la muestra con neutrones, se modeló la reacción de captura muestreando uniformemente el origen de cada uno de sus productos dentro del volumen de hueso. Para representar la reacción completa se requirió de un total de cinco simulaciones.

En primer lugar, se modeló la emisión de protones de 580 keV producidos por la interacción de los neutrones con el nitrógeno 14. Además, en el 94% de los casos, la captura de neutrones en boro 10 produce iones de litio de 840 keV y partículas alfa de 1470 keV mientras que en el 6% se producen

iones de litio de 1010 keV y partículas alfa de 1780 keV . Cada uno de los posibles productos de la reacción se simuló por separado.

La muestra de hueso se modeló teniendo en cuenta la composición determinada experimentalmente y la inhomogeneidad espacial de la densidad. Para generar los espectros se midió la distribución de pulsos de energía depositados por las partículas cargadas en un detector de silicio. Las energías medidas se discretizaron en intervalos consistentes con el analizador multicanal empleado en el experimento real.

Como resultado se obtuvieron los cinco espectros de energía correspondientes a cada uno de los productos de la interacción de los neutrones con la muestra borada. El espectro total se calculó pesando las componentes por su probabilidad de ocurrencia y sumándolas. Por último, como los resultados de las simulaciones de MCNP están normalizados por partícula emitida por la fuente, fue necesario volver a normalizarlos de acuerdo a la fluencia total de neutrones presente en el experimento real.

En la ecuación 5.7 se muestra cómo se calcularon los números de cuentas por canal de energía del espectro total. En esta ecuación, φ corresponde al flujo de neutrones, t_{ir} al tiempo de irradiación, V al volumen de la muestra, σ_B y σ_N a las secciones eficaces microscópicas de la reacción de captura en boro y nitrógeno y n_B y n_N a los números de átomos de boro 10 y nitrógeno 14. Por último, los valores C corresponden a los resultados de las simulaciones de MCNP para cada componente del espectro total.

$$k = \varphi t_{ir} V (\sigma_B n_B (0.06 (C_{\alpha 1780} + C_{Li 1010}) + 0.94 (C_{\alpha 1470} + C_{Li 840})) + \sigma_N n_N C_p). \quad (5.7)$$

5.2.5. Cálculo de espectros de energía de partículas alfa en tejidos duros mediante métodos analíticos.

Una forma alternativa de reconstruir el espectro de espectrometría alfa consiste en sumar adecuadamente las funciones inversas del poder de frenado de las partículas alfa, los iones de litio y los protones que atraviesan el tejido óseo.

Esta técnica, además de evidenciar si el poder de frenado empleado es correcto, provee un método alternativo para inferir dicha magnitud a partir de una muestra en el caso de que la concentración de boro sea conocida.

Este método se implementó para reconstruir un espectro experimental. Las funciones inversas del poder de frenado se calcularon a partir de las curvas de energía residual de las partículas alfa, los iones de litio y los protones obtenidas con SRIM para la composición de fémur de oveja.

El espectro total se calculó a partir de la ecuación 5.8, donde A_B y A_N corresponden al peso atómico del boro 10 y el nitrógeno 14 y S_α , S_{Li} y S_p corresponden a los poderes de frenado de las partículas alfa, los iones de litio y los protones, respectivamente.

$$eventos_E = \varphi\eta\Gamma N_a \left(\left(\frac{\sigma_B}{A_B} [^{10}B] \left(\frac{1}{S_\alpha} + \frac{1}{S_{Li}} \right) \right) + \left(\frac{\sigma_N}{A_N} [^{14}N] \left(\frac{1}{S_p} \right) \right) \right). \quad (5.8)$$

5.3. Resultados y discusión.

En la figura 5.5 se puede observar el espectro de rayos X característicos que se obtuvo en la irradiación de una muestra de fémur de oveja con protones de 2 MeV en el experimento de PIXE. La línea punteada corresponde al ajuste que realiza el programa GUPIX para reconstruir el espectro experimental y determinar las concentraciones de cada uno de los elementos constituyentes. En la tabla 5.1 se reporta la composición elemental del fémur de oveja medido comparada con la composición de un hueso promedio de humano adulto. Debido a que la técnica de medición no permite cuantificar elementos más livianos que el carbono, la proporción de hidrógeno se agregó de acuerdo a la concentración media reportada en el ICRU 46 para un hueso humano promedio.

En la figura 5.6 se puede ver la curva del poder de frenado de partículas alfa en fémur de oveja calculado con SRIM a partir de la composición elemental medida por PIXE. Para la determinación de la concentración de boro a partir de la ecuación 5.6 se obtuvo la curva de energía residual de las partículas alfa en función del espesor másico de la muestra que se puede ver en la figura 5.7. También se incluyó la curva para la composición del fémur de humano

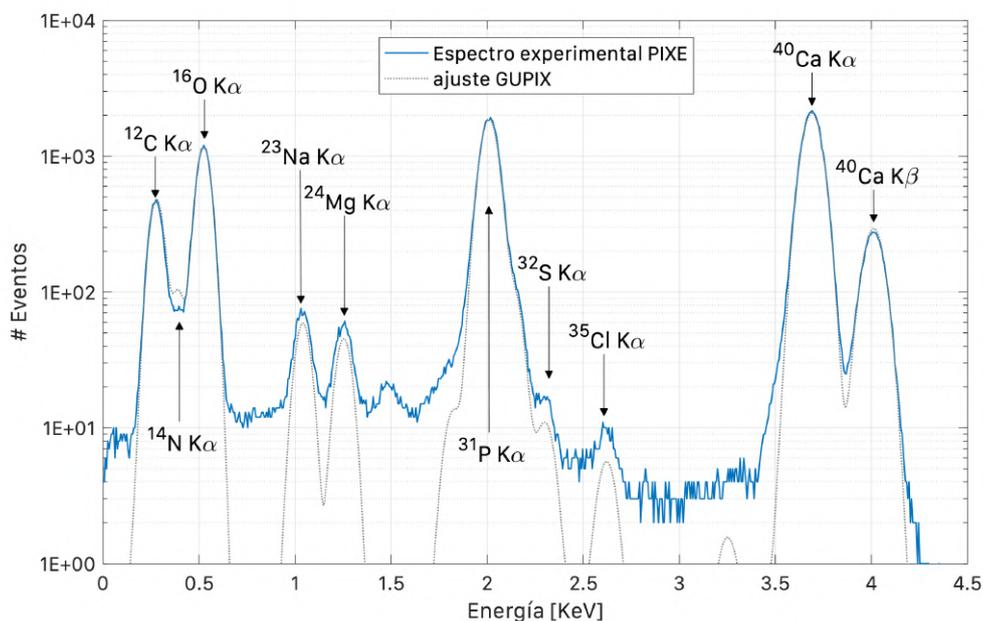


Figura 5.5: Espectro PIXE obtenido a partir de una muestra de fémur de oveja.

Elemento	PIXE [% masa]	ICRU-46 Fémur de adulto [% masa]
1H	0.032 ± 0.005	0.07
^{12}C	0.16 ± 0.02	0.34
^{14}N	0.036 ± 0.005	0.028
^{16}O	0.37 ± 0.06	0.37
^{23}Na	0.008 ± 0.001	0.001
^{24}Mg	0.004 ± 0.001	0
^{31}P	0.12 ± 0.02	0.05
^{32}S	0.0008 ± 0.0001	0.002
^{35}Cl	0.0006 ± 0.0001	0.001
^{40}Ca	0.26 ± 0.04	0.13

Tabla 5.1: Composición elemental de fémur de oveja determinada experimentalmente por PIXE y de fémur de humano adulto reportada en ICRU 46.

adulto reportada en el ICRU 46 a modo de referencia.

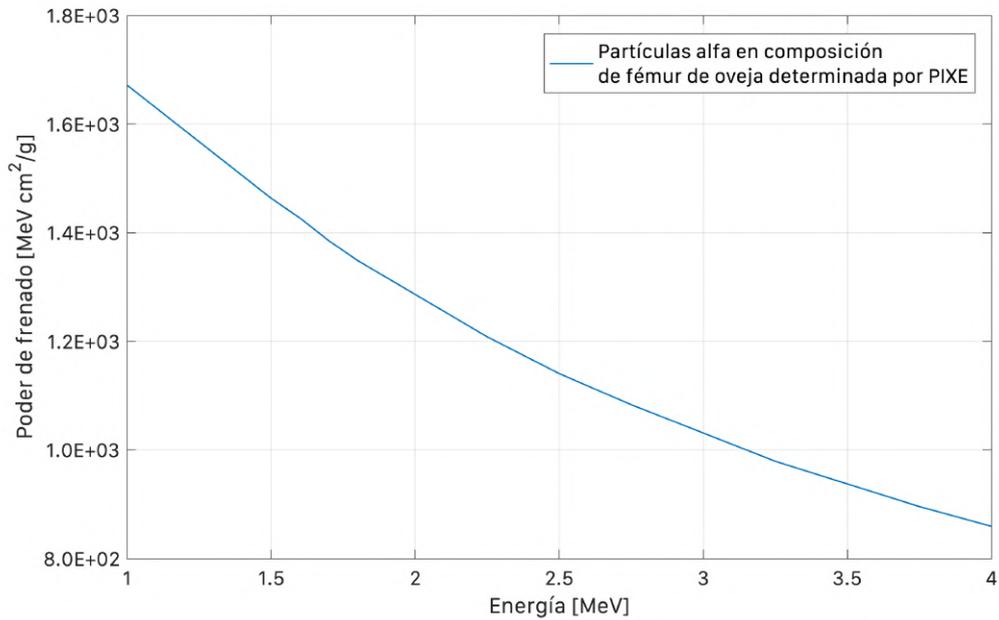


Figura 5.6: Poder de frenado de partículas alfa en fémur de oveja calculado con SRIM a partir de la composición elemental medida por PIXE (Tabla 5.1).

Los resultados del experimento de transmisión simulado con MCNP reportados en la figura 5.8 muestran que la estructura del hueso solo produce un efecto de ensanchamiento en los picos correspondientes a la energía residual. Sin embargo, la energía media de cada uno de los picos es exactamente la misma que para aquellas muestras del mismo espesor pero de estructura homogénea. Este fenómeno es consistente con lo que sucede en tejidos blandos como el pulmón [87].

A partir de estos resultados se calculó la energía media de cada espectro y se construyó el gráfico de la figura 5.9. Allí se puede ver la comparación de las energías residuales para muestras de distintos espesores de estructuras

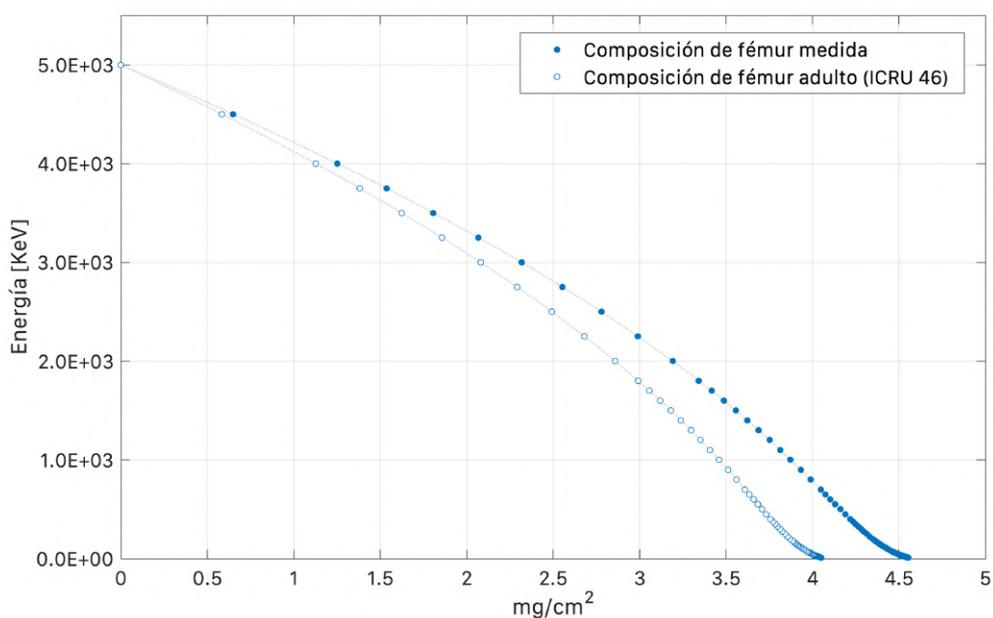


Figura 5.7: Comparación de las curvas de energía residual del fémur de oveja medido y del fémur de humano adulto reportado en el ICRU 46.

homogéneas (marcador relleno) y no homogéneas (marcador vacío). Además, se incorporó la curva generada a partir del SRIM.

Como se puede observar, la única diferencia entre los resultados reportados es la amplitud de las barras de error. Aquellas muestras que poseen una estructura cuya densidad no es uniforme en todo su volumen poseen espectros de energía residual más anchos. El hecho que los resultados obtenidos para las muestras con estructuras no uniformes coincidan con aquellos obtenidos a partir del SRIM demuestra que la estructura de la muestra no afecta la determinación del poder de frenado.

Una vez determinado el poder de frenado se adquirieron espectros de

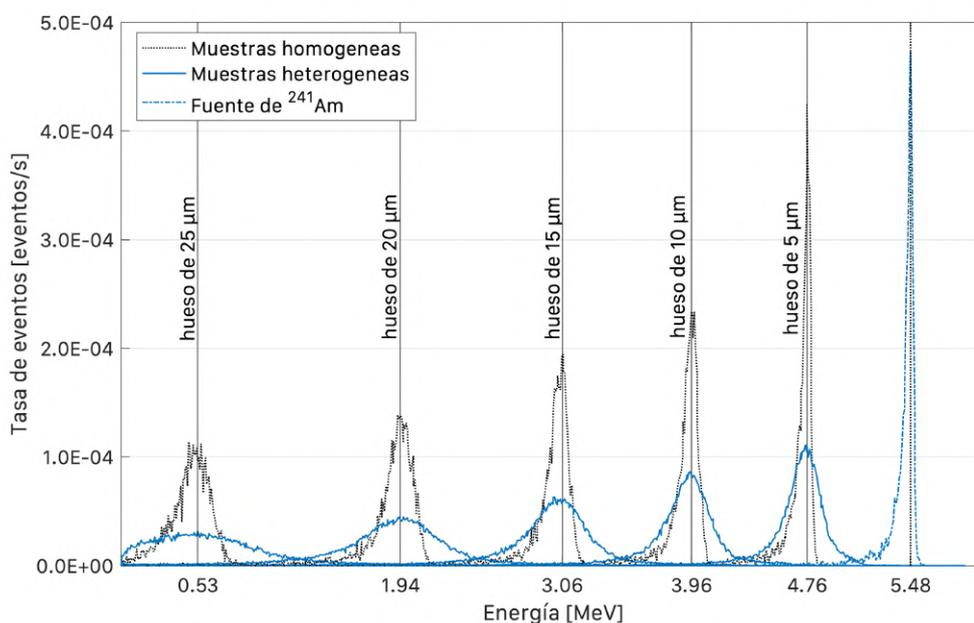


Figura 5.8: Simulación de experimento de transmisión de partículas alfa en muestras de fémur de oveja. El desvío estándar de las distribuciones Gausseanas de las muestras inhomogéneas es mayor que el de las muestras homogéneas. Sin embargo, el valor medio permanece inalterado.

muestras de fémur ovino para determinar su concentración de boro 10. Se midió una muestra control sin boro y tres muestras provenientes de estudios de biodistribución infundidas con BPA. En la figura 5.10 se puede observar un espectro de una muestra de fémur con boro 10 luego de la sustracción del ruido de fondo experimental.

A partir de la ecuación 5.6 y de la energía residual obtenida con SRIM utilizando la composición de la muestra medida por PIXE se determinó la concentración de boro 10 de las muestras estudiadas. Los resultados obtenidos se reportan en la tabla 5.2.

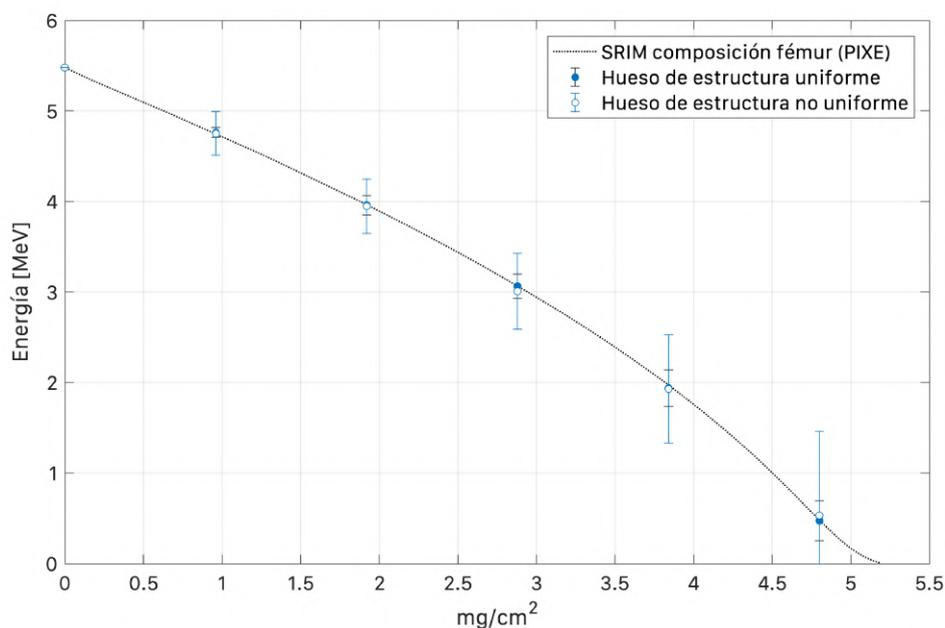


Figura 5.9: Energía residual en función del espesor másico obtenida a partir de simulaciones de MCNP con muestras homogéneas y heterogéneas.

Muestra	Espectrometría alfa [ppm]	Autorradiografía [ppm]
A	< límite de detección	< límite de detección
B	15 ± 3	16 ± 1
C	29 ± 5	31.5 ± 0.5
D	48 ± 8	42.6 ± 0.5

Tabla 5.2: Concentraciones de boro 10 de muestras de fémur ovino determinadas por alfa espectrometría y por autorradiografía.

Para validar la extensión de la técnica de espectrometría alfa se compararon los resultados obtenidos con mediciones de las mismas muestras que fueron hechas empleando la técnica de autorradiografía. Teniendo en cuenta las incertezas experimentales ambas técnicas coinciden para todas las muestras estudiadas.

La precisión de las mediciones realizadas con la técnica de espectrometría

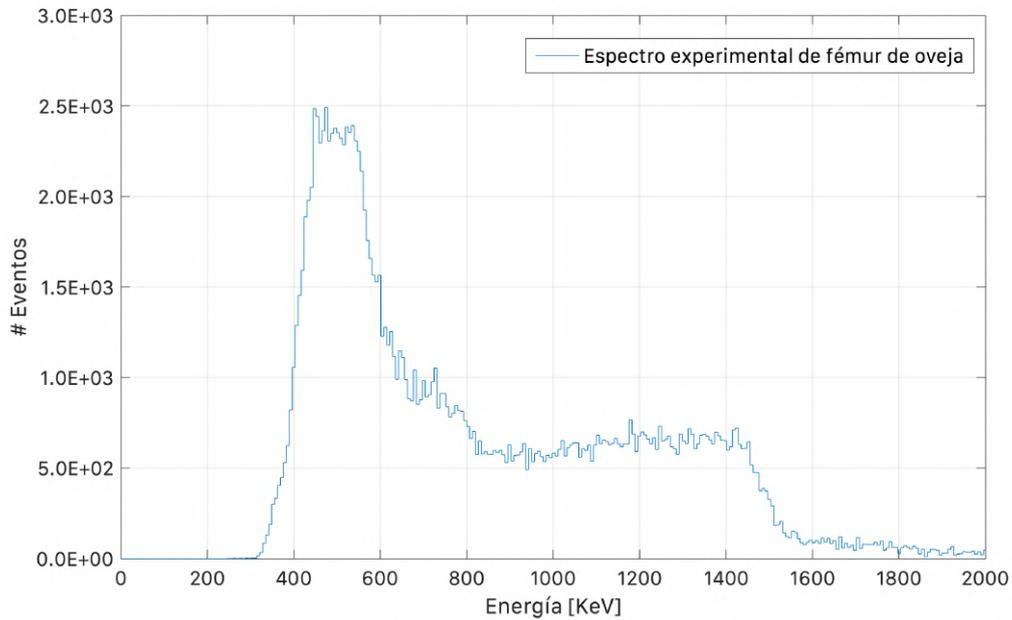


Figura 5.10: Espectro experimental de espectrometría alfa obtenido a partir de una muestra de fémur de oveja infundida con boro 10.

alfa depende de la precisión con la que se determinaron los distintos parámetros de la ecuación 5.6. Según la publicación donde se describe la técnica en tejidos blandos, la incerteza asociada a esta técnica es del 18 % [85]. A diferencia del tejido blando, en el caso de los huesos no hay una contracción volumétrica significativa debido a la pérdida de agua de la muestra. Este hecho permite ignorar el factor de corrección que se aplica en el caso de los tejidos blandos reduciendo la incerteza a un total del 17%.

Por último, en la figura 5.11 se muestra la comparación de un espectro obtenido experimentalmente con el espectro reconstruido a partir de los resultados obtenidos en las simulaciones con MCNP asumiendo la concentración de boro 10 medida. En la misma figura también se muestra

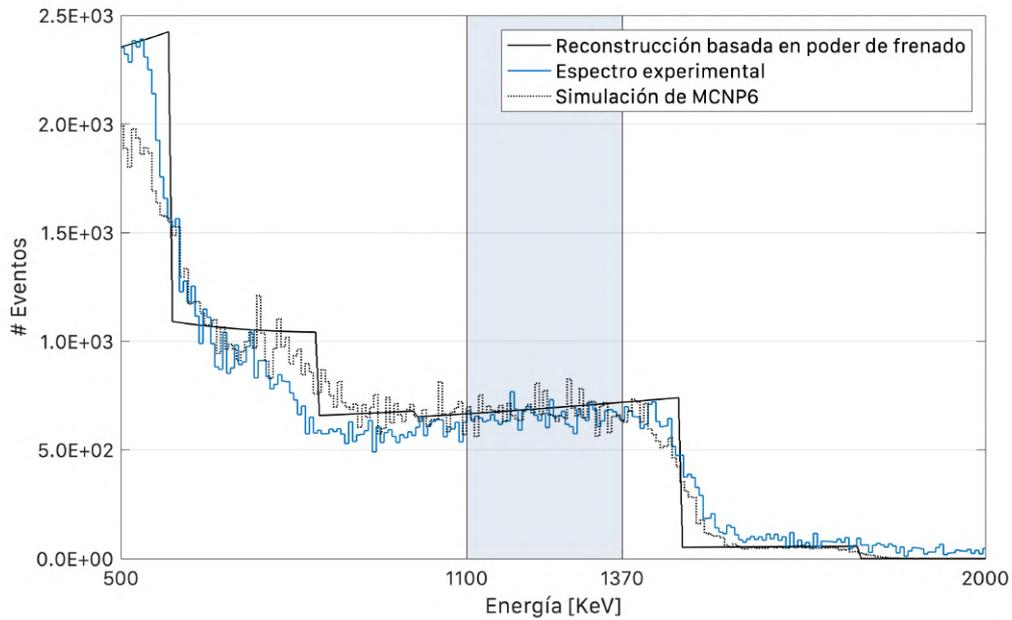


Figura 5.11: Comparación del espectro experimental con los espectros obtenidos a partir de simulaciones computacionales.

el espectro reconstruido analíticamente a partir de las funciones inversas del poder de frenado de los distintos productos de la reacción de captura neutrónica en boro. Dentro del rango de energías sombreado únicamente las partículas alfa contribuyen a la formación del espectro. La integral de este intervalo corresponde a la variable K en la ecuación 5.6.

5.4. Conclusiones.

Los estudios de biodistribución de boro 10 en animales pequeños demuestran que el hueso, al igual que otros tejidos sanos, capta la misma concentración de boro que la sangre [92]. Esto significa que en determinados

escenarios clínicos, los huesos sanos se deben tener en cuenta en los estudios dosimétricos previos al tratamiento ya que la radiación podría volverlos más frágiles. En el caso de BNCT, para estudiar la dosimetría en este tipo de tejidos es necesario conocer exactamente que concentración de boro poseen.

La extensión de la técnica de espectrometría alfa desarrollada en este capítulo probó ser una técnica adecuada para la determinación de boro 10 en hueso. Las mediciones realizadas en muestras boradas mostraron ser consistentes con mediciones de las mismas muestras realizadas con la técnica de autorradiografía presentada en el capítulo anterior.

La determinación del poder de frenado de las partículas alfa evaluando el programa SRIM con la composición elemental del fémur medida por PIXE probó ser una alternativa válida que permite prescindir de experimentos de transmisión. De este mismo razonamiento se desprende que dada una muestra de un material cualquiera con una concentración de boro conocida, se puede determinar la energía residual y el poder de frenado de las partículas alfa en dicho material.

Como las muestras se lograron preparar sin exponerlas a ninguna sustancia química que las degrade pueden ser utilizadas para realizar nuevas mediciones. Este hecho, además de permitir la repetibilidad de las mediciones permite conservar la estructura de la muestra. Esta es una característica muy atractiva de la técnica de espectrometría alfa porque, si bien la concentración de boro medida corresponde al promedio en la muestra, la misma puede volver a utilizarse para otro tipo de estudios que provean información espacial

adicional como la autoradiografía cualitativa[85][63].

6

Tratamiento de nuevas patologías

En los últimos años la terapia por captura neutrónica en boro ha demostrado ser un opción viable para el tratamiento de cánceres que no presentan otra alternativa terapéutica. Importantes grupos de investigación alrededor de todo el mundo han consolidado proyectos clínicos exitosos demostrando el potencial terapéutico de BNCT para distintos tipos de tumores.

En el caso particular local, el proyecto argentino de BNCT cuenta con un protocolo clínico aprobado para el tratamiento de melanoma cutáneo en extremidades[93, 16]. Este proyecto comprende tanto las actividades de un grupo multidisciplinario de investigadores con amplia experiencia en la terapia, como la infraestructura de alta complejidad necesaria para llevar a cabo el tratamiento.

Debido a los avances en inmunoterapia, el número de pacientes que ingresan al protocolo clínico de melanoma se ha visto reducido en los últimos años. Este hecho, sumado a la experiencia internacional en otros centros, ha

alentado a los científicos a orientar sus esfuerzos en la investigación de nuevos blancos de tratamiento.

Ampliar el alcance del protocolo clínico implica estudiar exhaustivamente las capacidades de la infraestructura de tratamiento actual. De este modo se pueden reconocer las fortalezas y debilidades para plantear un plan de acción consistente y evaluar posibles patologías candidatas.

En este capítulo se presenta la caracterización computacional del haz clínico del reactor RA-6 y se reporta la participación en el tratamiento de dos pacientes veterinarios con cáncer de cabeza y cuello. Durante esta experiencia se desarrollaron dos sistemas de ensayo que permitieron simular el posicionamiento de los pacientes de forma sencilla evitando someterlos a anestesia general.

6.1. Introducción.

El proyecto argentino de BNCT fue inaugurado por la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) en 1996. Su objetivo consiste en impulsar el desarrollo tecnológico y científico para promover e implementar la terapia por captura neutrónica en boro como una alternativa real para el tratamiento oncológico de cánceres sin opciones clínicas. Como se mencionó, en la actualidad el proyecto cuenta con un protocolo clínico aprobado para el tratamiento de pacientes con melanoma cutáneo en extremidades. Este protocolo fue diseñado por el Instituto de Oncología “Ángel H. Roffo”

(IOAR) de la Universidad de Buenos Aires en conjunto con profesionales de los tres centros atómicos de CNEA.

La facilidad Argentina de BNCT habilitada para la irradiación de los pacientes con melanoma se aloja en el recinto del reactor nuclear RA-6 del Centro Atómico Bariloche (CAB). Desde el año 2003 al 2007, se trataron con éxito un total de 7 pacientes [93] [16]. En ese entonces, la facilidad contaba con un haz de neutrones mixto térmico-epitérmico llamado *haz B1*. Las características neutrónicas de este haz estaban especialmente diseñadas para el tratamiento de lesiones superficiales.

Entre los años 2007 y 2011, debido a requerimientos de normativas internacionales, el reactor se detuvo con el propósito de reconfigurar el núcleo para operar con uranio de bajo enriquecimiento. Durante este periodo de detención se aprovechó para acondicionar la facilidad de tratamiento de BNCT. Una de las reformas más importante desde el punto de vista del haz terapéutico, fue la incorporación de un cono al puerto plano del haz. Dicha modificación geométrica permitió acercar el puerto al núcleo del reactor. De este modo, no solo mejoraron las posibilidades de posicionamiento del paciente, sino que también se mejoró la calidad del espectro neutrónico. Esta nueva versión del haz fue nombrada como *haz B2* [30].

El reclutamiento de pacientes para la segunda fase de los ensayos clínicos comenzó en junio del año 2015. Desde entonces, el nuevo *haz B2* se utilizó para tratar un paciente de melanoma con un tratamiento de BNCT de fracción única. La nueva versión del haz mixto es capaz de entregar un flujo

térmico máximo a 1 *cm* de profundidad en tejido, con una intensidad 10 % mayor a la de su predecesor [30].

Estudios retrospectivos computacionales de los pacientes de la primera fase de ensayos clínicos, mostraron que la nueva facilidad ofrece considerables ventajas desde el punto de vista dosimétrico. Dichas ventajas sugieren que aunque el *haz B2* se haya diseñado originalmente para tratar tumores superficiales, empleando las estrategias de planificación de tratamiento adecuadas, se podría utilizar para tratar lesiones más profundas.

A pesar de los avances en el entendimiento de la etiología del cáncer de cabeza y cuello, la adopción de nuevas modalidades de tratamiento y las significativas mejoras en técnicas de cirugía y radioterapia, tratar este tipo de cáncer continúa siendo un desafío. El carcinoma de células escamosas (SCC) de la región de la cabeza y el cuello es la sexta causa más común de muerte por cáncer en todo el mundo y su incidencia aumenta rápidamente en los países en vías de desarrollo. En los últimos años, la mortalidad y la morbilidad asociadas a SCC se han mantenido relativamente constantes. Por este motivo, es necesario profundizar en la investigación de terapias más eficaces y menos tóxicas capaces de discriminar entre células malignas y normales [94, 95].

Los resultados clínicos exitosos en el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello informados por grupos de BNCT de Finlandia, Japón y Taiwán [96, 34, 97, 98, 99], junto con la experiencia de CNEA en estudios experimentales de BNCT para cáncer oral [100, 101, 102, 103, 104, 105] motivan la investigación de la viabilidad del tratamiento del cáncer de cabeza y cuello en humanos en

la facilidad de BNCT del reactor RA-6.

Actualmente el proyecto argentino de BNCT aborda el estudio de la factibilidad de tratamiento de cáncer de cabeza y cuello desde distintas áreas de investigación. Particularmente se están llevando a cabo estudios preclínicos veterinarios y estudios de dosimetría computacional que evalúan tanto las características actuales del haz de tratamiento como posibles mejoras en su diseño.

En ciertos casos, los tumores espontáneos en perros pueden considerarse sistemas tumorales válidos para evaluar terapias contra el cáncer. Estos animales pueden desarrollar carcinomas espontáneos de células escamosas de cabeza y cuello que se asemejan a tumores humanos en términos biológicos, histopatológicos [106] e incluso a nivel celular [107].

Por este motivo se puso en marcha un protocolo preclínico con el objetivo de ofrecer tratamientos de BNCT a pacientes veterinarios sin otra alternativa terapéutica. Este tipo de ensayos no solo apuestan a mejorar la calidad de vida del paciente si no que también permiten poner a punto las prácticas clínicas y obtener información científica muy valiosa. A diferencia de los seres humanos, para quienes el proyecto ya cuenta con amplia experiencia en el procedimiento clínico, tratar pacientes veterinarios implica resolver determinadas cuestiones técnicas. En este capítulo se describe el estudio computacional del haz de tratamiento y la participación, la propuesta de soluciones y el análisis dosimétrico retrospectivo para el tratamiento de dos pacientes veterinarios tratados en la facilidad de BNCT del reactor RA-6.

6.2. Materiales y Métodos.

6.2.1. El reactor RA-6 y el haz B2.

El RA-6 es un reactor del tipo MTR (Material Testing Reactor), completamente diseñado y fabricado en Argentina. Su función original, como lo indican las siglas en inglés, es evaluar la respuesta de materiales irradiados con propósitos industriales. Se trata de un reactor de pileta abierta, refrigerado y moderado por agua liviana. Actualmente opera a 1 MW de potencia alimentado por uranio 235 enriquecido 19.7%. Cuenta con bloques reflectores de grafito y con un sistema móvil de barras de control de cadmio organizadas en forma de matriz.

La facilidad argentina de BNCT se encuentra anexada a uno de los lados de la pileta del reactor RA-6. Consiste en un bunker de concreto que aloja en su interior a la sala de tratamiento de aproximadamente 3 x 3 m. La sala cuenta con una camilla electrónica móvil, láseres de posicionamiento y un sistema de comunicación de audio y video que permite vigilar al paciente durante el tratamiento. El puerto del haz se encuentra centrado en la pared que separa la sala del núcleo del reactor.

El haz B2 está compuesto por neutrones térmicos y epitérmicos y fue diseñado originalmente para tratar lesiones superficiales. Está físicamente conformado por un delimitador cónico de polietileno borado con un recubrimiento interno de plomo. A 15 cm de la base del cono se encuentra la

apertura de 15 *cm* de diámetro que permite el ingreso de los neutrones a la sala de tratamientos.

6.2.2. Modelo computacional de la fuente de neutrones.

En la primera instancia de este estudio de factibilidad se realizó una caracterización computacional de un modelo de la fuente del reactor RA-6. Para este propósito se utilizó una descripción virtual de la fuente del reactor y el modelo geométrico del puerto del haz generados por el personal del RA-6. Las simulaciones se realizaron con el código MCNP que permite recrear el transporte de partículas por método de Monte Carlo.

El modelo de la fuente utilizado consiste en un subconjunto de neutrones y fotones registrados a partir de una simulación previa del transporte en la geometría completa del reactor. Este tipo de fuente se llaman fuentes *Track by Track* o fuentes *rssa*. El registro previo se realiza en una superficie del modelo completo del RA-6 seleccionada a conveniencia del usuario. Para el caso de la fuente *rssa* del haz *B2*, se registró la posición, dirección y energía de neutrones y fotones que atraviesan el plano inferior del delimitador cónico. El número de registros se determinó teniendo en cuenta que debe ser estadísticamente significativo para garantizar la convergencia de futuras simulaciones.

Como se mencionó anteriormente, la fuente *rssa* tienen el propósito de ahorrar el tiempo de cálculo que implica simular el transporte desde el núcleo

del reactor a la base del colimador. Una vez adquirido el registro, el conjunto de la fuente generada y la geometría del delimitador es suficiente para simular irradiaciones en el reactor completo.

La caracterización computacional se realizó en dos etapas. En primer lugar se calcularon los parámetros característicos del haz libre en aire propuestos por Sakamoto *et al.* [108]. Entre ellos se estimó la corriente, el flujo y la dosis absorbida promediados en el apertura del puerto. Además se discretizó el flujo en un conjunto de grupos de energía para visualizarlo en forma de espectro.

En segundo lugar, se estudió el comportamiento del haz en un fantoma cúbico de agua. El agua tiene una densidad similar a la densidad promedio de los tejidos biológicos y se considera equivalente a los mismos en términos de transporte de partículas. Por este motivo resulta útil para visualizar la morfología tridimensional de las distintas componentes de flujo y dosis resultantes.

6.2.3. Tratamientos clínicos veterinarios.

En el periodo comprendido entre julio del año 2015 y diciembre del 2016, el protocolo preclínico veterinario admitió a dos perros en situación terminal con SCC de cabeza y cuello. Los pacientes veterinarios sin ninguna otra opción terapéutica fueron tratados con BNCT en la facilidad del reactor RA-6. Ambos animales recibieron dos tratamientos administrados en intervalos de 3 y 4 semanas.

6.2.4. Planificación del tratamiento.

Para planificar el tratamiento de los perros primero se les realizó una tomografía de la cabeza completa. Los animales ingresaron al tomógrafo en posición decúbito ventral bajo efectos de anestesia total con respiración mecánicamente asistida. Se adquirieron imágenes tomográficas en intervalos de 2 mm de espesor a lo largo de toda la cabeza. Durante este procedimiento se colocaron marcadores fiduciales sobre puntos estratégicos ubicados alrededor del hocico (figura 6.1). Estos marcadores permiten identificar las posiciones en las que fueron asignados en las imágenes tomográficas. Además, sirven de referencia para facilitar la planificación y el posicionamiento del paciente durante el tratamiento. Finalizada la adquisición de imágenes, las posiciones de los marcadores se tatuaron sobre la piel del animal para preservarlas hasta la aplicación de la terapia. Las imágenes adquiridas exportadas en formato DICOM se procesaron digitalmente para cumplir con los requerimientos del sistema de planificación de tratamientos.

El proceso computacional de planificación consiste en encontrar posiciones del haz que permitan entregar dosis terapéuticas al tumor protegiendo simultáneamente los tejidos sanos circundantes. Para esto se realizan simulaciones del transporte de neutrones en un modelo del paciente y se estudia la dosimetría asociada a la planificación en los órganos de interés. El número de campos planificados depende tanto del tamaño del tumor como de las características espectrales del haz. En particular, para los dos casos veterinarios, fue necesario planificar tratamientos que involucraron la



Figura 6.1: Colocación de marcadores fiduciales de referencia espacial durante la tomografía computada.

superposición de 3 campos distintos.

Estos casos se planificaron utilizando el programa NCTPlan. Se trata del mismo sistema de planificación que se utiliza en el protocolo clínico de melanoma. En su última versión incorpora una serie de mejoras ideadas exclusivamente para trabajar con el *haz B2* del RA-6 [109]. El NCTPlan genera un modelo voxelizado tridimensional del paciente a partir de las imágenes tomográficas, posiciona espacialmente el modelo de la fuente y construye un input completo de MCNP para simular el transporte de partículas. El input se utiliza para estimar las dosis absorbidas entregadas por cada una de las cuatro componentes de dosis de BNCT. La descripción elemental de los materiales biológicos utilizados en la simulación se definieron

de acuerdo al ICRU Report 46 [91].

La concentración de boro en sangre asumida para la simulación se extrapoló de los datos reportados en Kulvik *et al.*[110] para perros infundidos con 250 mg BPA/Kg. Estos datos se escalaron linealmente suponiendo una infusión de 350 mg BPA/Kg. Las relaciones de boro entre el tumor, la mucosa y el resto de los tejidos sanos con la sangre se establecieron en 3:1, 2:1 y 1:1, respectivamente.

Para el análisis dosimétrico de los planes propuestos se llevó a cabo el cálculo de dosis fotón equivalente usando el modelo de dosis estándar de RBE y CBE fijos para BNCT. Los factores de pesos utilizados fueron: 3.0 para la dosis de neutrones, 1 para la dosis de fotones y 3.8, 2.5 y 1.3 para la dosis asociada a la captura neutrónica en el tumor, en la membrana mucosa y en el resto de los tejidos normales, respectivamente [34].

En ciertas ocasiones es inevitable exponer órganos sanos al campo de tratamiento para alcanzar dosis en tumor que justifiquen la aplicación de la terapia. El cuerpo de biólogos y veterinarios evaluó los riesgos de los planes de tratamiento propuestos y llegaron al consenso de que al menos uno de los ojos de los pacientes quedaría directamente expuesto al haz. Si bien esta decisión implica que para ese órgano en particular no se puede limitar la dosis por debajo de los valores recomendados, no quiere decir que las consecuencias asociadas, si es que las hay, sean clínicamente irreversibles.

En este contexto, se prescribieron los tratamientos para que la dosis máximas recibida por al menos uno de los ojos esté limitada a $6.5 Gy - Eq$

o menos en cada una de las aplicaciones. Las dosis calculadas para el resto de los órganos en riesgo resultaron inferiores a las dosis limitantes. Según la bibliografía consultada, la dosis fotón equivalente media recibida por el cerebro no debe superar los $7 Gy - Eq$ [111], la dosis equivalente máxima en la piel no debe superar los $22 Gy - Eq$ [16] y la dosis absorbida máxima en mucosa no debe superar los $6 Gy$ [34].

6.2.5. Simulación del posicionamiento.

En condiciones normales, una vez finalizada la planificación, se ensaya el posicionamiento planificado en una sala de simulación. Esta sala es un recinto similar a la sala de tratamiento que cuenta con un puerto cónico ficticio igual al del reactor RA-6, la misma camilla y el mismo conjunto de láseres de posicionamiento. El objetivo de este ensayo es familiarizarse con la sala y la anatomía del paciente para reducir el tiempo de posicionamiento durante la ejecución de la terapia.

Las simulaciones con seres humanos consisten en citarlos a la sala de simulación y definir qué herramientas y procedimientos se utilizarán para garantizar el posicionamiento determinado en la planificación. Se debe tener en cuenta que el paciente tiene que mantener una postura cómoda que le permita estar inmóvil durante el transcurso del tratamiento. Para posicionarlo se suelen aprovechar todos los grados de libertad de la camilla, así como también inmovilizadores adicionales de radioterapia convencional. Los láseres de posicionamiento permiten tomar medidas y alinear los tatuajes

con puntos fijos de referencia como el plano del puerto cónico o el centro del haz.

A diferencia del procedimiento practicado con personas, simular el posicionamiento de un paciente veterinario implica someterlo a anestesia general. Para evitar el riesgo que conlleva se idearon dos procedimientos alternativos. Para el primer paciente se propuso la impresión tridimensional de un modelo de la cabeza completa generado a partir de las imágenes tomográficas. Para el segundo, se realizó una simulación virtual utilizando la reconstrucción tridimensional de la tomografía del paciente y un modelo geométrico de la sala de tratamiento.

6.2.5.1. Simulación con modelo impreso en tres dimensiones.

El modelo tridimensional de la cabeza se generó a partir de la tomografía adquirida para la planificación del tratamiento. Las imágenes DICOM se procesaron utilizando el programa de procesamiento digital de imágenes de código abierto ImageJ. En primer lugar se eliminó la camilla del tomógrafo de todas las imágenes. Luego se aplicó un filtro de umbral de grises para segmentar las imágenes en dos regiones: la región correspondiente al aire y el complemento correspondiente al volumen de la cabeza del perro. A partir de la segmentación de la cabeza se generó el volumen tridimensional y se exportó en formato STL.

Si bien las siglas STL provienen de “estereolitografía”, se las suele asociar

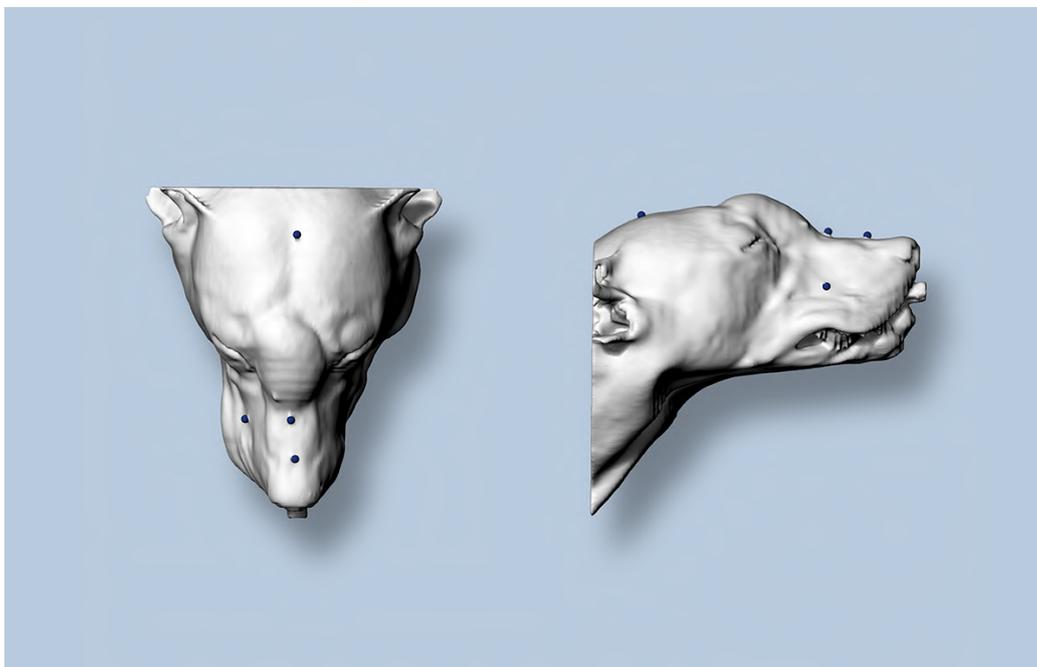


Figura 6.2: Modelo tridimensional del paciente veterinario reconstruido a partir del estudio tomográfico.

con el retroacrónimo “Standar triangle Language”. Este formato describe objetos tridimensionales a partir de triángulos concatenados por sus lados. De este modo, la resolución del modelo tridimensional depende del número de triángulos empleados para describir las superficies involucradas. Un mayor número de triángulos permite una descripción más precisa.

Para poder imprimir la cabeza del perro fue necesario preprocesar digitalmente el modelo tridimensional. Ciertas superficies debieron cerrarse para convertir la reconstrucción en un volumen sólido y suave (figura 6.2). Además, debido al tamaño de la impresora, fue necesario dividir el modelo en cuatro piezas procurando que el posterior ensamble no modificase las dimensiones finales. Para comprobar que el modelo mantuviese su escala a



Figura 6.3: Impresión del modelo tridimensional del paciente veterinario con impresora FDM.

lo largo de todo proceso se tomaron como referencia las distancias entre los marcadores fiduciales.

El modelo de la cabeza del paciente veterinario se imprimió con una impresora 3D de modelado por deposición fundida (FDM) de fabricación propia (figura 6.3). Como material de impresión se utilizó filamento de PLA. El PLA es uno de los materiales más populares para impresión 3D FDM ya que es técnicamente sencillo de imprimir. Es un polímero biodegradable derivado del ácido láctico y debido a su configuración molecular es poco propenso a deformarse a temperatura ambiente.

En la figura 6.4 se puede ver cómo la cabeza plástica resultante se utilizó

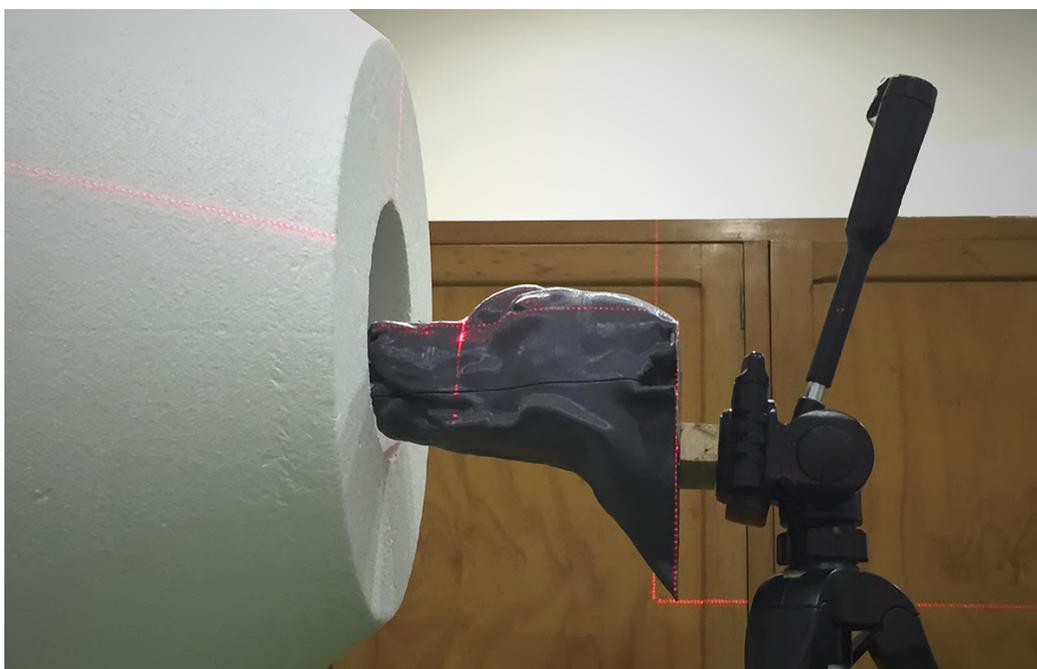


Figura 6.4: Ensayo de posicionamiento pretratamiento en sala de simulación.

para ensayar el posicionamiento planificado en la sala de simulación. Los puntos de entrada y de salida de los haces planificados se dibujaron sobre el modelo a partir de la posición de los marcadores fiduciales. El día del tratamiento se utilizó el modelo para trasladar los nuevos puntos de referencia a la cabeza del paciente. Este procedimiento simplificó sustancialmente el posicionamiento y se evitó someter al animal a una administración adicional de anestesia.

6.2.5.2. Simulación en entorno virtual.

Después de una experiencia satisfactoria con el modelo impreso de la cabeza del paciente se determinó que aplicando este recurso en casos similares

no sería necesario someter al perro a anestésias prolongadas para simular el posicionamiento. Sin embargo, por cuestiones logísticas, durante el siguiente tratamiento no se dispuso del tiempo requerido para imprimir el modelo tridimensional. Por este motivo se exploró la alternativa de simular el posicionamiento virtualmente.

Para generar un réplica virtual de la sala de tratamientos se utilizó el programa Rhinoceros. Este programa de modelado CAD ampliamente utilizado en el sector del diseño industrial ofrece un conjunto de herramientas completo para dibujar modelos tridimensionales.

La reconstrucción tridimensional de la cabeza del paciente se realizó del mismo modo que la del paciente anterior. Además, se generaron marcadores esféricos que se colocaron para acentuar la posición de los marcadores originales reconstruidos a partir de la tomografía. Los láseres de la sala de tratamiento se simularon con un conjunto de planos ortogonales semitransparentes que permitieron visualizar con claridad el modo en el que los mismos se proyectan sobre la superficie del paciente.

Esta construcción virtual permitió ensayar el posicionamiento y determinar con exactitud la posición de entrada y salida de los haces planificados con respecto a los marcadores fiduciaros y los láseres de la sala de tratamiento. Utilizando distintas posiciones de la cámara que determina el punto de vista del observador fue posible adquirir imágenes de referencia desde perspectivas muy convenientes como se puede ver en la figura 6.5. A partir de ellas se pudieron generar distintas plantillas y determinar distancias de referencia

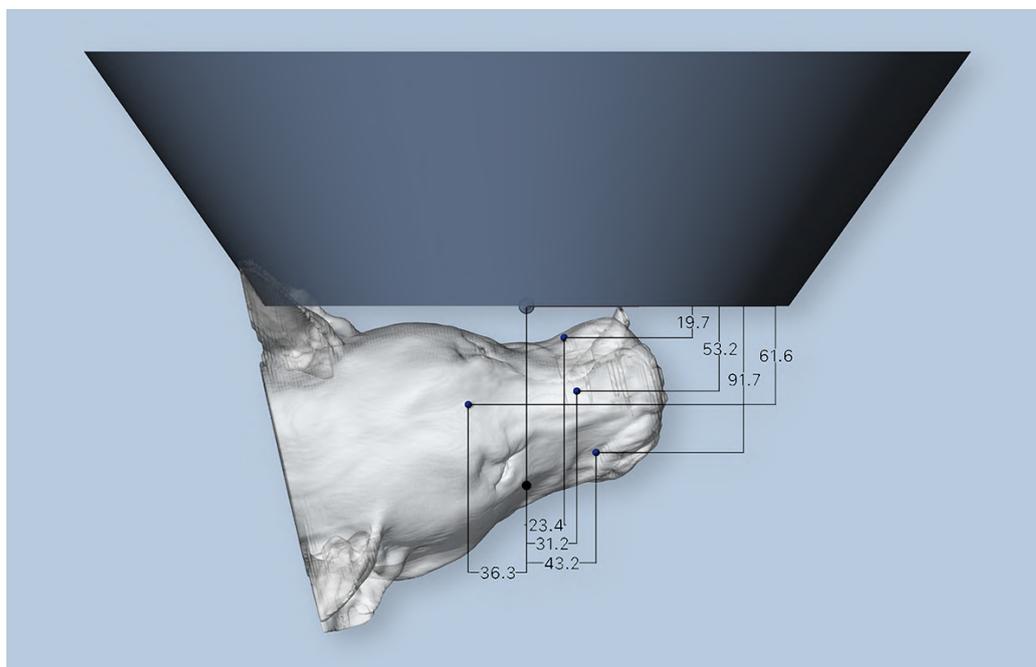


Figura 6.5: Ensayo de posicionamiento pretratamiento en sala de simulación.

que permitieron asistir el posicionamiento de forma exacta y eficiente.

6.2.6. Irradiación de los pacientes.

La irradiación de los pacientes veterinarios se realizó en la facilidad clínica del reactor RA-6 ubicado en la ciudad de Bariolche. Para esto fue necesario trasladar al equipo profesional, a los pacientes y a sus acompañantes. Cada una de las jornadas de irradiación comenzó con la infusión del compuesto borado realizada por los biólogos y veterinarios. Al mismo tiempo se dio inicio a la toma de muestras de sangre durante intervalos de tiempos regulares para determinar la concentración de boro y su evolución temporal.

El personal químico involucrado midió el boro de las muestras de sangre con un equipo de ICP-OES ubicado en el edificio del reactor y reportó los resultados a los físicos. A medida que se adquirieron las muestras se fue construyendo un curva de la concentración de boro en sangre en función del tiempo. Estos datos se utilizaron para alimentar un modelo predictivo que de acuerdo a la cinética del boro, permitió establecer el comienzo y la duración total del tratamiento para cumplir con la dosimetría planificada[112].

Una vez que la concentración de boro en sangre se estabilizó, se anestesió al paciente y se lo ingresó al bunker del reactor. Dentro de la sala se llevó a cabo el posicionamiento ensayado para el primero de los campos de irradiación planificados. Luego se cerró la puerta del bunker y se informó al personal del reactor para que lleve al RA-6 a potencia operativa. Durante la irradiación, el paciente permaneció activamente anestesiado. Sus signos vitales se monitorearon de forma remota y se controló que mantenga su posición a través de una cámara de video.

Cumplido el tiempo de irradiación calculado para el primero de los campos se detuvo parcialmente el reactor y se volvió a ingresar al bunker. Allí se reposicionó al paciente según la planificación del segundo campo y se tomó una muestra de sangre. La misma se midió para corroborar que la concentración de boro se mantuviese en los valores predichos por el modelo cinético. Una vez llevada a cabo la irradiación del segundo campo se volvió a repetir el procedimiento para el último.

Luego de la irradiación se controló la evolución del estado clínico de los

animales y se realizaron tomografías para evaluar el efecto del tratamiento.

6.3. Resultados y discusión.

6.3.1. Caracterización computacional del haz B2.

A continuación se reportan los resultados de la caracterización computacional del *haz B2*. Los mismos se obtuvieron de simulaciones de MCNP utilizando la descripción de la fuente *rssa* del reactor RA-6. En todas ellas se simuló un número de historias de partículas suficiente para asegurar la convergencia del problema con errores estadísticos menores al 1%. La figura 6.6 muestra el espectro completo de neutrones en la superficie del puerto del haz libre en aire.

En la tabla 6.1 se lista un conjunto de parámetros característicos del haz libre en aire promediados en la apertura del puerto. Este conjunto de parámetros, propuestos originalmente en Sakamoto *et al.* [108], se definió con el objetivo de describir el desempeño de haces principalmente epitérmicos. Como se puede ver en la figura 6.6, el *haz B2* está compuesto por neutrones térmicos y epitérmicos en proporciones similares. A diferencia de un haz puramente epitérmico, donde se prioriza el potencial terapéutico en profundidad, el *haz B2* se diseñó para tratar lesiones superficiales. En este contexto, la componente de neutrones térmicos es tan importante como la de epitérmicos. Para que aquellos parámetros originales normalizados por la

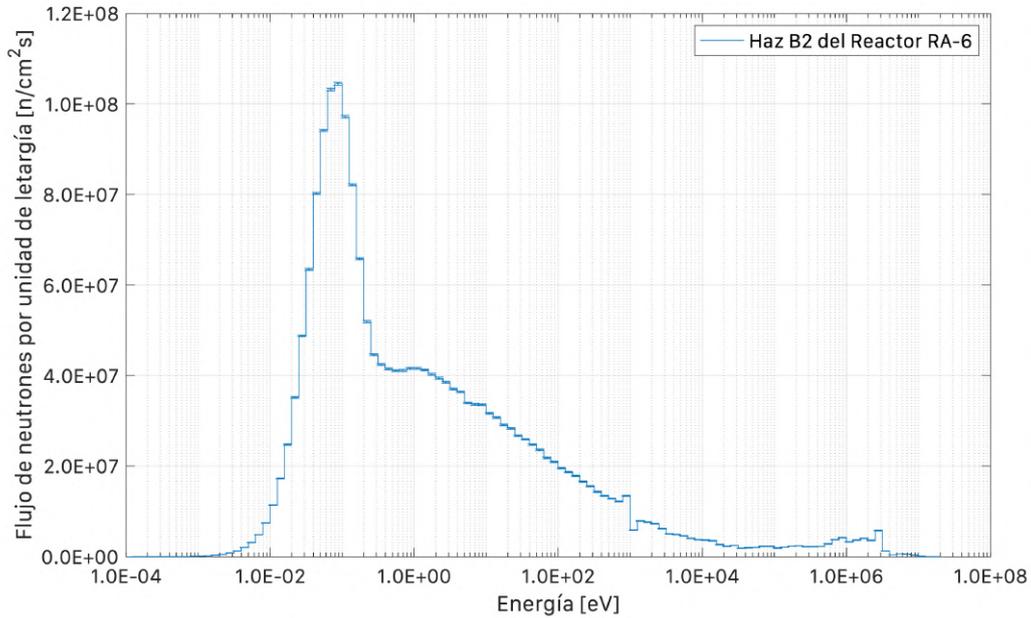


Figura 6.6: Espectro de neutrones libre en aire del haz B2 del reactor RA-6.

componente de neutrones epitérmicos tuviesen sentido, hubo que adaptarlos de modo que tengan en cuenta que para el *haz B2*, la componente útil también incluye los neutrones térmicos.

Las tres primeras magnitudes de la tabla 6.1 corresponden al flujo de neutrones dividido en tres intervalos energía: el intervalo de los neutrones térmicos ϕ_{th} que comprende a todos los neutrones con energías menores a 0.5 eV , el intervalo de neutrones epitérmicos ϕ_{epi} que comprende a aquellos cuyas energías varían entre 0.5 eV y 10 keV y el intervalo de neutrones rápidos ϕ_{fast} con energías superiores a 10 keV .

La cuarta y quinta magnitud, $\dot{D}_\gamma/\phi_{th+epi}$ y $\dot{D}_{epi+fast}/\phi_{th+epi}$, corresponden a las tasas de dosis fotón y rápida específica, respectivamente. Por último,

ϕ_{th}	$(2.466 \pm 0.002) \times 10^8$	n/cm^2s
ϕ_{epi}	$(2.158 \pm 0.003) \times 10^8$	n/cm^2s
ϕ_{fast}	$(1.628 \pm 0.007) \times 10^7$	n/cm^2s
$\dot{D}_\gamma/\phi_{th+epi}$	$(1.74 \pm 0.01) \times 10^{-12}$	Gy/cm^2s
$\dot{D}_{epi+fast}/\phi_{th+epi}$	$(5.70 \pm 0.02) \times 10^{-13}$	Gy/cm^2s
J_{th+epi}/ϕ_{th+epi}	0.75 ± 0.02	

Tabla 6.1: Parámetros de haz libre en aire del haz B2 promediados en el puerto.

J_{th+epi}/ϕ_{th+epi} corresponde a la relación entre la corriente y el flujo de neutrones térmicos y epitérmicos. Originalmente el denominador de los últimos 3 parámetros era ϕ_{epi} , pero se lo modificó por ϕ_{th+epi} para que tuviese sentido en el contexto del *haz B2*.

A partir de las simulaciones de transporte del *haz B2* en un fantoma cúbico de agua se construyeron los perfiles de flujo en profundidad que se muestran en la figura 6.7. En esta figura se puede observar cómo la componente predominante de neutrones térmicos alcanza un valor máximo de $(1.10 \pm 0.01) \times 10^9 n_{th}/cm^2s$ a 1 cm de profundidad.

Por otro lado, la figura 6.8 muestra el perfil transversal del flujo total de neutrones a la profundidad a la que se encuentra el valor máximo. Se trata de un perfil radial plano y abruptamente delimitado por el radio del colimador. Desde el punto de vista clínico, este tipo de morfología del flujo es muy valiosa, ya que permite direccionar el haz eficientemente sobre el tumor, evitando dosis indeseadas en los tejidos circundantes.

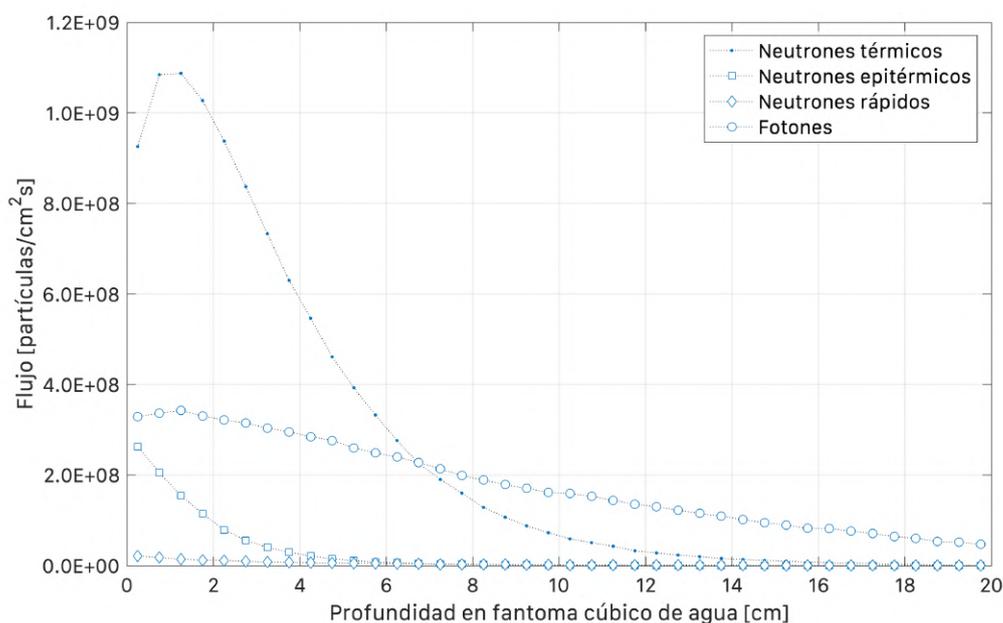


Figura 6.7: Perfil central del flujo de neutrones del haz B2 del reactor RA-6 en profundidad en el fantoma cúbico de agua.

6.3.2. Tratamientos clínicos veterinarios.

El primer paciente canino (a partir de ahora PerroL01) tenía un carcinoma invasivo de células escamosas de 51 cm^3 alojado en la cavidad nasal derecha. Debido principalmente a su localización, la masa tumoral era inoperable y no respondía a tratamientos de quimioterapia. Al momento de ser admitido en el protocolo preclínico, se lo consideraba un paciente terminal con una expectativa de no más de un mes de vida.

Entre los meses de julio y agosto del año 2015 el PerroL01 fue tratado con dos aplicaciones de BNCT consecutivas separadas por un intervalo de tres semanas. En cada una de las aplicaciones se irradió al paciente con dos

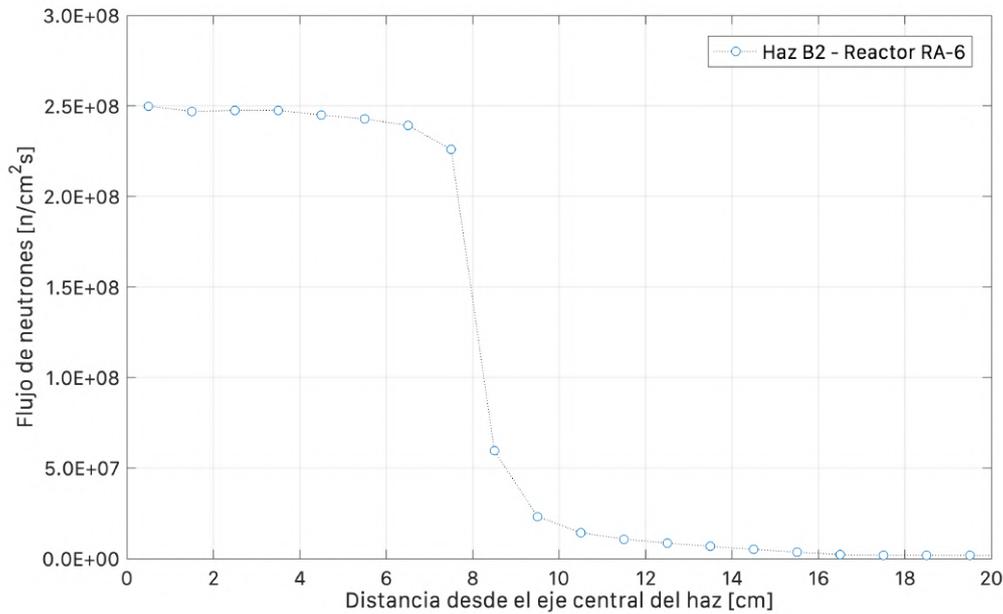


Figura 6.8: Perfil transversal del flujo total de neutrones del haz B2 a la profundidad en la cual el flujo es máximo.

campos planificados para entregar la mejor distribución de dosis posible en volumen tumoral. El plan de tratamientos final consistió en un campo lateral y un campo craneocaudal superpuestos sobre la lesión del paciente. Durante la primera aplicación de la terapia se irradiaron 31 minutos, mientras que en la segunda se irradiaron 45 minutos.

Una semana después de la primera aplicación del tratamiento se observó una importante mejora en el estado clínico general del paciente. Se detuvo el sangrado espontáneo de la cavidad nasal y mejoró su capacidad respiratoria. Luego de la segunda aplicación no quedaron indicios externos observables de la masa tumoral y el paciente recuperó la calidad de vida de un perro sano. Después de cada aplicación, se manifestaron señales de somnolencia

leve y de toxicidad aguda correspondientes a mucositis reversible (G1 y G2) que respondieron de forma positiva al tratamiento con corticoides. Durante los siguientes ocho meses el paciente no presentó signos de toxicidad grave ni de efectos a largo plazo. Estudios tomográficos de control revelaron una reducción del 50 % del volumen tumoral original.

Diez meses después del primer tratamiento de BNCT el paciente presentó un nuevo crecimiento tumoral invasivo. En junio del año 2016 se realizó un segundo tratamiento de BNCT de dos aplicaciones. Lamentablemente, luego de una respuesta inicial positiva el paciente fue sometido a eutanasia a fines de agosto del año 2016 debido a una desmejora generalizada de su estado clínico.

El segundo paciente canino (a partir de ahora PerroS02) padecía un tumor de las mismas características que el de PerroL01 pero con un volumen de 105 cm^3 . Debido al avance de la enfermedad y al estado general del animal, no se pronosticaba una esperanza de vida de mucho más de una semana.

El PerroS02 fue sometido a un tratamiento de dos aplicaciones de BNCT separadas por un intervalo de 4 semanas entre octubre y noviembre del año 2016. En este caso, como consecuencia del gran volumen tumoral, cada aplicación consistió en tres campos de tratamiento: un campo craneocaudal y dos campos laterales opuestos. En la primera aplicación del tratamiento se irradió al paciente un total de 43 minutos mientras que durante la segunda aplicación se irradió durante 46 minutos.

No se observaron signos de toxicidad en mediano plazo. Dos meses después

	$[^{10}B]_{sangre}$ [ppm]	Membrana mucosa Dosis absorbida [Gy]
Dosis límite		6
BNCT 1	11 ± 1	3.6
BNCT 2	13 ± 1	5.0

Tabla 6.2: Dosis absorbidas recibidas por la membrana mucosa del PerroL01 en cada aplicación de BNCT.

del primer tratamiento, la tomografía computada del paciente reveló una reducción del volumen tumoral de aproximadamente un 50 %. Durante nueve meses el paciente gozó de una calidad de vida aceptable para su edad, mostró signos clínicos de respuesta tumoral y no manifestó toxicidad alguna. A fines de julio del año 2017, para evitarle el sufrimiento debido al desmejoramiento generalizado de su salud, se asumió la responsabilidad de asistir su deceso.

En las tablas 6.2 y 6.3 se reportan las dosis absorbidas por la membrana mucosa de los pacientes caninos durante cada una de las aplicaciones de BNCT. Se puede observar que todas ellas se encuentran dentro del intervalo de 3 a 6 Gy reportado para pacientes humanos de cabeza y cuello tratados en Finlandia [34]. Por otro lado, la concentración de boro 10 en sangre reportada corresponde a la suma de las concentraciones promedio durante cada uno de los campos de tratamiento pesadas por el tiempo de irradiación relativo de cada incidencia del haz.

Las dosis administradas en otros tejidos sanos relevantes se reportan en las tablas 6.4 y 6.5. Todas ellas se encuentran por debajo de las dosis de tolerancia excepto por aquellas entregadas a los ojos. Esto se debe a que

	$[^{10}B]_{sangre}$ [ppm]	Membrana mucosa Dosis absorbida [Gy]
Dosis límite		6
BNCT 1	12 ± 1	4.7
BNCT 2	11 ± 3	4.9

Tabla 6.3: Dosis absorbidas recibidas por la membrana mucosa del PerroS02 en cada aplicación de BNCT.

	Dosis en tejido normal Media (Min, Max) [Gy-Eq]			
	Ojo izquierdo	Ojo derecho	Cerebro	Piel
Dosis límite	6.5	6.5	7	22
BNCT 1	4.3 (3.6, 4.9)	4.3 (3.6, 5.0)	2.8 (1.1, 5.1)	3.0 (0.2, 7.7)
BNCT 2	4.3 (3.5, 5.0)	5.7 (5.4, 6.2)	3.4 (1.6, 5.6)	4.3 (0.2, 10.6)

Tabla 6.4: Dosis RBE equivalente recibidas por tejidos normales del PerroL01 en cada aplicación de BNCT.

	Dosis en tejido normal Media (Min, Max) [Gy-Eq]			
	Ojo izquierdo	Ojo derecho	Cerebro	Piel
Dosis límite	6.5	6.5	7	22
BNCT 1	5.9 (5.2, 6.5)	5.5 (5.0, 6.0)	2.3 (0.9, 5.5)	3.5 (0.2, 9.8)
BNCT 2	6.1 (5.4, 6.7)	5.7 (5.2, 6.2)	2.3 (0.9, 5.7)	3.6 (0.2, 10.0)

Tabla 6.5: Dosis RBE equivalente recibidas por tejidos normales del PerroS02 en cada aplicación de BNCT.

los ojos fueron los órganos que limitaron el tratamiento y los tiempos de irradiación se calcularon para alcanzar la dosis máxima segura.

En la tablas 6.6 y 6.7 se puede observar la dosimetría de los tumores de los pacientes veterinarios calculada acorde a datos adquiridos durante el tratamiento. La concentración de boro 10 en cada uno de los tumores se

BNCT	$[^{10}B]_{tumor}$ [ppm]	Dosis Tumor		Respuesta Observada
		Media (Min, Max)		
		Absorbida [Gy]	RBEw [Gy-Eq]	
1	33 ± 3	4.9 (3.4, 5.8)	13 (8, 15)	
2	39 ± 3	6.4 (4.5, 7.9)	17 (10, 22)	
Total		12.9 (8.3, 12.9)	29 (20, 35)	Respuesta parcial

Tabla 6.6: Dosis absorbida y RBE equivalente recibidas por el tumor del PerroL01 en cada aplicación de BNCT.

BNCT	$[^{10}B]_{tumor}$ [ppm]	Dosis Tumor		Respuesta Observada
		Media (Min, Max)		
		Absorbida [Gy]	RBEw [Gy-Eq]	
1	36 ± 3	6.2 (3.4, 7.4)	16 (7, 20)	
2	34 ± 9	6.3 (3.4, 7.5)	16 (7, 20)	
Total		12.5 (6.8, 14.9)	32 (14, 39)	Respuesta parcial

Tabla 6.7: Dosis absorbida y RBE equivalente recibidas por el tumor del PerroS02 en cada aplicación de BNCT.

considera 3 veces la concentración reportada en sangre. Los valores medios de la dosis absorbidas entregadas en cada una de las aplicaciones se encuentran dentro del intervalo de 5 a 11 Gy de dosis físicas promedio reportado en Kankaanranta et al. [34] para tumores en pacientes de cáncer de cabeza y cuello. Las dosis fotón equivalente pesadas con factores de efectividad biológica relativa no se pueden comparar directamente debido a que las concentraciones de boro y los factores de peso asumidos para el cálculo en pacientes caninos son menores que aquellos utilizados en el trabajo citado.

6.4. Conclusiones.

En este capítulo se presentó el tratamiento de dos casos veterinarios con cáncer espontáneo de cabeza y cuello. Los mismos fueron irradiados en la facilidad clínica de BNCT del reactor RA-6. En el contexto general de este trabajo, esta experiencia aporta información sólida acerca de la potencialidad del *haz B2* para el tratamiento de nuevas patologías.

La caracterización computacional permitió estudiar los atributos físicos del haz de neutrones. A partir del primer estudio del haz libre en aire se observó que el mismo posee una componente neutrónica predominante mixta formada por neutrones térmicos y epitérmicos en proporciones similares. Este tipo de composición resulta sumamente eficaz para el tratamiento de lesiones superficiales ya que los neutrones térmicos aportan la mayor parte de la dosis en los primeros centímetros de penetración en el tejido, mientras que los neutrones epitérmicos, se termalizan en los primeros centímetros y compensan la dosis depositada en mayor profundidad. Se trata de un espectro típico para el tratamiento de enfermedades superficiales como el melanoma cutáneo.

En la segunda etapa de la caracterización en fantoma cúbico de agua se revelaron características morfológicas del haz. Se observó que al interactuar con un material tejido equivalente, los neutrones térmicos alcanzan un flujo máximo de $1.1 \times 10^9 n_{th}/cm^2s$ a 1 cm de profundidad. Además, el flujo de esta componente se mantiene por encima del 50 % de su valor máximo hasta

los 4 *cm* de profundidad. Nuevamente se evidencia que el haz posee por diseño características que favorecen el tratamiento de patologías superficiales.

Uno de los atributos sobresalientes del *haz B2* resulta ser su perfil transversal. Como se muestra en la figura 3.3, la caída abrupta de intensidad debida al colimador posibilita planificar tratamientos bien direccionados hacia el blanco de tratamiento. Además, mejora la precisión de la superposición de campos evitando que se produzcan puntos de dosis altas en tejidos sanos circundantes a la lesión.

Esta primera etapa resultó fundamental para planificar las mejores combinaciones de incidencias posibles para los pacientes tratados. De acuerdo a la morfología de las lesiones y los atributos estudiados del haz en la caracterización computacional, se pudo optimizar la selección de posicionamientos del haz, maximizando la dosis entregada al tumor y minimizando el efecto sobre los tejidos sanos circundantes.

Tanto la impresión tridimensional del paciente como la simulación del posicionamiento en un entorno geométrico virtual, demostraron ser herramientas muy útiles. Ambos procedimientos simplificaron el ensayo del posicionamiento y evitaron someter a los pacientes veterinarios a complejas sesiones de anestesia total.

En ambos casos tratados se observaron respuestas tumorales positivas que conllevaron a una mejora en el estado clínico general de los pacientes. Solo se observaron reacciones agudas leves en los tejidos normales y no se observó ningún tipo de toxicidad a mediano y largo plazo.

A causa de la localización anatómica de los tumores, la prescripción de la dosis debió llevarse a cabo procurando preservar la funcionalidad de al menos uno de los ojos de cada paciente. Si bien un análisis conclusivo requeriría la inclusión de más casos clínicos, el hecho de no haber observado ninguna complicación significativa en este órgano, sugiere la posibilidad de explorar prescripciones de dosis mayores. Este escenario permitiría mejorar el potencial clínico del *haz B2* para el tratamiento de las regiones más profundas en casos de tumores de gran tamaño.

Los parámetros físicos característicos del haz están por debajo de los requerimientos para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello con BNCT propuestos en la bibliografía. Sin embargo, la experiencia clínica demostró que para determinados casos y con ciertas limitaciones, el *haz B2* fue capaz de proporcionar tratamientos con el potencial terapéutico suficiente para extender significativamente la sobrevida de los pacientes.

Estos parámetros han demostrado ser útiles históricamente para fijar límites de seguridad en el diseño de nuevos haces de BNCT. No obstante, esta última observación pone en evidencia que la caracterización física del espectro de un haz de tratamientos no es suficiente para hacer un análisis intensivo de su potencial terapéutico.

7

Figuras de mérito radiobiológicas

Parte del éxito clínico de BNCT depende de las características físicas de los haces de neutrones. Durante la etapa de diseño o acondicionamiento de las facilidades de tratamiento, es importante establecer criterios que permitan juzgar su desempeño. La experiencia clínica de aquellos centros que ya han tratado pacientes cumple un rol fundamental para definir figuras de mérito de referencia. A partir de esta información, es posible establecer márgenes de seguridad y efectividad para obtener así el mayor beneficio clínico en un tratamiento de BNCT.

Hasta la fecha, los denominados “parámetros de haz libre en el aire” han sido la única referencia internacionalmente consensuada a partir de la cual se diseñan, optimizan y comparan distintos haces clínicos. Una de las publicaciones más importantes al respecto es el reporte técnico de BNCT publicado por la IAEA en el año 2001 [113]. Allí se establece que las dos principales características de un haz clínico son la intensidad y la calidad del espectro neutrónico. Los valores de referencia reportados para estas figuras

de mérito han demostrado garantizar que un haz epitérmico sea adecuado y seguro para tratar tumores profundos. Sin embargo, a la hora de emplear estos valores para comparar haces con espectros de energía distintos se revelan importantes limitaciones.

En este capítulo se confrontan los parámetros de haz libre en el aire del *haz B2* con aquellos reportados para el haz del reactor finlandés *FiR1*. A partir de esta comparación se analizarán retrospectivamente casos clínicos tratados durante los ensayos clínicos de BNCT para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello llevados a cabo en Finlandia. Además, se demostrará que la introducción de figuras de mérito radiobiológicas basadas en modelos de probabilidad de efecto permiten realizar comparaciones más justas y realistas.

7.1. Introducción.

7.1.1. El desempeño terapéutico de un haz de BNCT.

El desempeño terapéutico de un haz de tratamiento se puede definir como el conjunto de su potencial terapéutico y su versatilidad ante distintos escenarios clínicos. Es decir que el mejor haz de tratamiento posible es aquel que no sólo pueda controlar completamente un tipo de tumor particular sino que además debe ser capaz de alcanzar el éxito clínico para distintas configuraciones geométricas de tumor y tejidos sanos circundantes.

Históricamente, el diseño y desarrollo de haces de neutrones seguros para

el uso clínico se llevó a cabo priorizando la optimización de la intensidad y la calidad del espectro neutrónico. Si bien estos parámetros garantizan seguridad radiológica, no permiten concluir directamente acerca del potencial terapéutico de un haz. Para ello fue necesario introducir ciertos valores de referencia basados en la experiencia clínica previa.

En el año 2001 la IAEA publicó el primer reporte técnico de BNCT [113]. Allí se detalla el estado de desarrollo de la terapia por captura neutrónica y se propone una serie de recomendaciones basadas en la experiencia clínica que se tenía hasta ese entonces. A la fecha de publicación del reporte, el interés internacional estaba enfocado principalmente en el tratamiento de tumores de cerebro utilizando neutrones provenientes de reactores nucleares. Debido a su localización, el tratamiento de este tipo de tumores profundos requiere el uso de haces principalmente epitérmicos. Esto se debe a que los neutrones epitérmicos se termalizan a medida que penetran en el paciente y alcanzan la energía óptima para ser capturados por el boro a la profundidad promedio del tumor.

A continuación se listan los parámetros propuestos en el reporte de la IAEA para caracterizar la intensidad y la calidad de haces epitérmicos:

- **Intensidad epitérmica del haz:** en base a datos clínicos se determinó que dada una concentración de boro adecuada y para alcanzar dosis terapéuticas en tumor en un tiempo de irradiación razonable ($\sim 1 h$), se recomienda que la intensidad de neutrones epitérmicos del haz de tratamiento debe ser como mínima de $1 \times 10^9 n/cm^2s$. El rango de

neutrones epitérmicos está definido entre 0.5 eV y 10 keV .

- **Dosis de neutrones rápidos:** Al interactuar con el tejido, los neutrones rápidos ($> 10\text{ keV}$) presentes en el haz de tratamientos producen protones de LET intermedio que causan un daño biológico mayor que el de los fotones. Se recomienda reducir la dosis depositada debido a las interacciones de los neutrones rápidos lo máximo posible ya que no es selectiva y daña tanto el tumor como el tejido sano circundante. El valor máximo recomendado es $2 \times 10^{-13}\text{ Gy/cm}^2$ por neutrón epitérmico.
- **Dosis gamma:** Al igual que la dosis depositada por neutrones rápidos, la dosis gamma no se deposita selectivamente en el tumor. Por este motivo, se recomienda que no supere valores de $2 \times 10^{-13}\text{ Gy/cm}^2$ por neutrón epitérmico.
- **Relación entre flujo de neutrones térmicos y epitérmicos:** La presencia de neutrones térmicos en el haz incidente produce un incremento de la dosis en la superficie del paciente. Si bien esta característica podría beneficiar el tratamiento de lesiones superficiales, aumenta la probabilidad de efectos adversos en los tejidos sanos que rodean lesiones profundas. Se recomienda que la componente térmica no supere el 5% de la componente epitérmica.
- **Relación entre la corriente total de neutrones y el flujo total de neutrones:** Esta relación puede tomar valores entre 0 y 1 y representa la convergencia direccional del haz. Se puede interpretar

como la fracción de neutrones que se mueven en sentido paralelo a su dirección principal. Mientras mayor sea el valor absoluto de la figura de mérito, mayor será el control espacial en la deposición de dosis. Se recomienda un valor mínimo del 0.7.

Estos parámetros fueron ideados para caracterizar el potencial de haces puramente epitérmicos. Es por eso que utilizarlos para evaluar un haz de tratamiento mixto como el *haz B2*, no hace justicia alguna al propósito original del diseño del haz. En haces mixtos diseñados para el tratamiento de lesiones superficiales se requiere una alta componente de neutrones térmicos que interactúen con el boro presente en los primeros milímetros de tejido del paciente. En cambio, para tratar lesiones profundas es conveniente minimizar la componente térmica para que la dosis no específica en superficie no limite la deposición de dosis en profundidad.

En la tabla 7.1 se reportan los parámetros correspondientes al *haz B2* calculados a partir de una fuente *rssa* en MCNP. Cada uno de los valores está promediado en la apertura total del puerto. Como se puede apreciar,

	TecDoc-1223 Ref.	Haz B2	
ϕ_{epi}	$> 1.0 \times 10^9$	$(2.158 \pm 0.002) \times 10^8$	n/cm^2s
$\dot{D}_{fast}/\phi_{epi}$	$< 2.0 \times 10^{-13}$	$(1.223 \pm 0.008) \times 10^{-12}$	Gy/cm^2s
$\dot{D}_{\gamma}/\phi_{epi}$	$< 2.0 \times 10^{-13}$	$(2.231 \pm 0.009) \times 10^{-10}$	Gy/cm^2s
ϕ_{th}/ϕ_{epi}	< 0.05	1.141 ± 0.002	n/cm^2s
J_{total}/ϕ_{total}	> 0.7	0.753 ± 0.001	

Tabla 7.1: Parámetros recomendados en IAEA Tec-Doc 1223 del haz B2 promediados en el puerto.

el único parámetro que cumple las recomendaciones es la relación entre la corriente total de neutrones y el flujo total de neutrones. Todos los demás difieren prácticamente en órdenes de magnitud. En estos términos, sería lógico cuestionarse la potencialidad del *haz B2* para el tratamiento lesiones profundas. Sin embargo, la experiencia preclínica con pacientes veterinarios expuesta en el capítulo 6 ha demostrado que empleando una planificación adecuada es posible conseguir resultados favorables. Este hecho sugiere que los parámetros físicos propuestos en la recomendación del reporte IAEA Tec-Doc 1223 no son suficientes para sacar conclusiones acertadas acerca del desempeño terapéutico de un haz de BNCT.

En base a la definición, la evaluación correcta del desempeño terapéutico de un haz de tratamiento debería involucrar figuras de mérito que permitan medir directamente el potencial terapéutico y su versatilidad. Uno de los trabajos pioneros en la incorporación de nuevas herramientas a la evaluación y comparación de haces de tratamientos de BNCT fue publicado por Wheeler et al. en 1999 [44]. En este trabajo se muestra cómo es posible comparar distintos haces a partir de un modelo radiológico de probabilidad de control tumoral desarrollado para tumor cerebral. Una de las ventajas de este tipo de figuras de mérito es que tiene en cuenta la calidad neutrónica del haz que se pretende evaluar independientemente de si el mismo fue diseñado para tratar lesiones profundas o superficiales. En el trabajo se comparan tanto haces epitérmicos como modelos de haz simplificados y haces que involucran un único campo de irradiación.

Desde 1999 hasta la actualidad, se han desarrollado modelos de cálculo de

dosis fotón equivalente mucho más precisos que permitieron la construcción de nuevos modelos radiobiológicos de probabilidad de efecto. Estos modelos describen la relación entre la dosis entregada por el tratamiento y el efecto biológico observado, tanto para tumor como para tejido sano. En este capítulo se emplearán estos nuevos desarrollos para construir criterios de evaluación y comparación de haces de tratamiento que permitan juzgar su desempeño clínico de forma justa y realista.

7.1.2. Desventajas de los modelos dosimétricos actuales.

La dosis definida como energía depositada por unidad de masa se impuso históricamente en el ámbito de las terapias radiantes como la magnitud que de alguna manera permite cuantificar la intensidad del daño producido al tejido irradiado. Este concepto trasciende desde los tiempos en los que solo se practicaba el uso clínico de fotones provenientes de fuentes radioactivas. Gracias al desarrollo de nuevas tecnologías y al avance en el entendimiento de la interacción de la radiación con la materia viva, en las últimas décadas se han puesto en práctica nuevas terapias radiantes que involucran el uso de otros tipos de radiaciones. Las radioterapias de electrones, protones, neutrones e incluso de iones pesados, han demostrado ser muy efectivas para el tratamiento de diversas patologías oncológicas.

Una de las principales diferencias entre estas terapias es el mecanismo físico con el que cada tipo de radiación interactúa con el tejido vivo. Este fenómeno

tiene consecuencias directas en el efecto biológico de cada una de ellas. Dos campos de radiación de distinta naturaleza pueden depositar exactamente la misma cantidad de energía. Sin embargo, como los mecanismos físicos de interacción con la materia son distintos, el efecto biológico puede ser muy diferente. En estos términos, utilizar a la dosis absorbida como magnitud transversal para comparar el potencial efecto clínico de las distintas terapias puede conducir a conclusiones erróneas.

Para resolver esta problemática se introdujo el concepto de dosis equivalentes. La dosis equivalente se define como la dosis de un tipo de radiación de referencia que produce exactamente el mismo efecto biológico que una radiación de interés. Típicamente, el tipo de radiación de referencia a partir de la cual se establece un lenguaje clínico común son los fotones. Esto se debe a que en la actualidad, la radioterapia de fotones es aquella de la cual se posee mayor historial científico y mayor entendimiento de los efectos biológicos que produce.

En la práctica, la dosis equivalente se calcula como el producto entre la dosis absorbida y el factor de efectividad biológica relativa (RBE) correspondiente a la radiación de interés. Los factores RBE se determinan empíricamente a partir de experimentos de sobrevida en cultivos celulares que permiten establecer la relación entre la dosis depositada por distintos tipos de radiación que producen un mismo nivel de efecto biológico. Uno de los principales inconvenientes de los factores RBE es que por simplicidad, se suele utilizar un único factor fijo que relacione dos tipos de radiación. Para ello, se asume que la relación entre las dosis comparadas es constante

para cualquier efecto biológico, ignorando así, que los factores RBE son estrictamente dependientes de la dosis absorbida.

En el caso particular de BNCT, los haces de tratamiento generados en aceleradores y reactores nucleares están compuestos por un campo de radiación complejo que comprende fotones y neutrones de distintas energías. Al interactuar con el tejido vivo este campo complejo se diversifica aun más, debido a la producción de protones e iones pesados que se generan como consecuencia de distintas reacciones nucleares. A continuación se listan las principales componentes que contribuyen a la energía total depositada durante un tratamiento de BNCT:

- **Componente de dosis Boro (D_1):** Se suele llamar dosis boro a aquella energía depositada por unidad de masa por las partículas alfas y los iones de litio que resultan de la captura de los neutrones térmicos en los átomos de boro 10. Se trata de la radiación de mayor transferencia lineal de energía (LET), motivo por el cual la dosis se deposita principalmente en la célula que aloja el compuesto borado. Dado que el efecto biológico de esta componente depende de la microdistribución intracelular del boro 10, fue necesario introducir un termino más apropiado para el RBE conocido como la efectividad biológica del compuesto (CBE). A diferencia de los factores RBE que dependen principalmente del tipo de radiación, los factores CBE están relacionados con la forma en la que se distribuye el boro suministrado al paciente en los distintos tejidos. Es decir que el CBE depende tanto

del compuesto borado como de la calidad de la radiación y del tejido irradiado. En el ámbito clínico se suelen utilizar los valores de CBE publicados en Coderre et al. [114]. Allí se reporta un factor de 3.8 para BPA en tumor y 2.5 para BPA en piel.

- **Componente de dosis de neutrones térmicos (D_2):** La dosis de neutrones térmicos es la dosis resultante de la reacción $^{14}\text{N}(n, p)^{14}\text{C}$ que se produce cuando los neutrones térmicos del haz interactúan con el nitrógeno presente en el tejido del paciente. El valor típico del factor de RBE para esta componente de dosis utilizado en la clínica es de 3.2.
- **Componente de dosis de neutrones rápidos (D_3):** Cuando los neutrones epitérmicos y rápidos del haz de tratamiento colisionan con el hidrógeno presente en el tejido del paciente se produce la reacción $^1\text{H}(n, n')p$. El protón puesto en movimiento produce una deposición local de energía. El factor RBE para esta componente de dosis también es 3.2.
- **Componente de dosis gamma (D_4):** La dosis gamma total está conformada por dos componentes. Una de ellas se conoce como la dosis de fotones estructurales y resulta de los rayos gamma que provienen de la fuente de neutrones. La segunda componente se denomina dosis de fotones inducidos y se origina por la absorción de neutrones térmicos en el tejido, como resultado de la reacción $^1\text{H}(n, \gamma)^2\text{H}$.

La Dosis Equivalente Total en BNCT se calcula como la suma de todas las componentes de dosis absorbida pesadas por su correspondiente factor de

efectividad biológica:

$$D_{eq}[Gy - Eq] = CBE \times D_1 + RBE_{th} \times D_2 + RBE_{fast} \times D_3 + RBE_{\gamma} \times D_4 \quad (7.1)$$

La definición presentada en la ecuación 7.1 se ha utilizado en todos los proyectos clínicos de BNCT del mundo. Si bien permite establecer criterios de seguridad para la prescripción de tiempos de irradiación, asume de forma errónea que el efecto biológico de cada componente es independiente del efecto biológico de todas las demás. Este hecho, en conjunto con el uso de factores de RBE fijos independientes de la dosis, deviene en el cálculo de dosis equivalentes sobrestimadas e inconsistentes con los efectos clínicos observados. Más allá de ser un tema de discusión en bibliografía actual y en reuniones científicas, esta problemática perjudica significativamente a la promoción clínica de la terapia. El reporte de dosis altas entregadas en una única fracción de tratamiento sin efectos clínicos consistentes suele desestimar el verdadero potencial terapéutico del BNCT.

Por este motivo, en los últimos años se ha puesto el foco en la revisión del modelo clásico de cálculo de dosis con el objetivo de calcular dosis más realistas [115, 116]. Uno de los modelos que apunta principalmente a resolver los dos problemas mencionados anteriormente es el modelo de Dosis Isoefectiva a Fotones propuesto por González y Santa Cruz [117]. Para la evaluación del potencial terapéutico del *haz B2* mediante la comparación retrospectiva de casos clínicos de cáncer de cabeza y cuello tratado originalmente con el reactor finlandés *FiR1*, se utilizará este nuevo

modelo de cálculo de dosis. Además, se demostrará la utilidad del mismo para evaluar modelos de probabilidad de efecto biológico que pueden ser utilizados como figuras de mérito para hacer la comparación más justa y verosímil.

7.2. Materiales y Métodos.

7.2.1. Dosis isoelectiva.

El modelo de Dosis Isoelectiva a fotones publicado en el año 2012 tiene en cuenta fenómenos como la reparación de primer orden de lesiones subletales y la interacción sinérgica entre las distintas componentes de radiación. La ecuación general para la dosis isoelectiva en BNCT se muestra en la siguiente ecuación:

$$D_R(D_1, \dots, D_4) = \frac{1}{2} \frac{(\alpha/\beta)_R}{G_R} \left(\sqrt{1 + \frac{4G_R}{\alpha_R(\alpha/\beta)_R} \left(\sum_{i=1}^4 \alpha_i D_i + \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^4 G_{ij}(\theta) \sqrt{\beta_i \beta_j} D_i D_j \right) - 1} \right). \quad (7.2)$$

En la ecuación 7.2, α_i y β_i son los coeficientes del modelo lineal cuadrático de fracción única para la componente de dosis i ($i = 1, \dots, 4$), mientras que D corresponde a la dosis absorbida. Además, $G_{ij}(\theta)$ son los factores generalizados de Lea-Catchside dependientes del tiempo de irradiación θ . Estos factores representan la probabilidad de que dos lesiones subletales

causadas por las radiaciones i y j que coexisten temporalmente se combinan para formar una lesión letal [118, 119]. El subíndice R indica que el parámetro corresponde a la radiación de referencia y los subíndices 1, 2, 3 y 4 corresponden a las cuatro componentes de dosis absorbida principales de BNCT: boro, térmica, rápida y de fotones. Los parámetros de este modelo tienen la ventaja de que pueden ser derivados del mismo experimento de supervivencia celular del cual se derivan los factores RBE y CBE del modelo de cálculo de dosis estándar. Estos factores también dependen de la especie celular estudiada en el experimento de supervivencia y del compuesto borado utilizado.

Del mismo modo que la dosis fotón equivalente del modelo de cálculo de dosis convencional, la Dosis isoelectiva a fotón establece una equivalencia entre BNCT y un tratamiento con fotones que produce el mismo efecto biológico. Por este motivo, para reportar dosis iso-efectivas se utiliza la unidad $Gy(IsoE)$ que permite diferenciarla del $Gy - Eq$ del modelo convencional.

7.2.2. Evaluación de modelos de dosis-efecto.

Contar un modelo de cálculo de dosis equivalente realista permite emplear dichas dosis para evaluar modelos de probabilidad de efecto biológico. Estos modelos, como su nombre lo indica, predicen la probabilidad de ocurrencia de un efecto biológico determinado a partir de la dosis entregada al tejido blanco. Estos modelos sirven tanto para caracterizar efectos clínicos deseados,

como los modelos de probabilidad de control tumoral (TCP), como para caracterizar la ocurrencia de efectos adversos, como es el caso de los modelos de probabilidad de complicación de tejido normal (NTCP).

Su utilidad no se limita únicamente a conocer el valor absoluto de la probabilidad de que un efecto biológico ocurra. Además de revelar el potencial terapéutico de un tratamiento, los modelos de probabilidad pueden ser herramientas muy poderosas para prescribir tiempos de irradiación fijando un efecto objetivo. Incluso se pueden emplear para comparar el desempeño clínico de distintos haces de tratamiento igualando el nivel de respuesta. Estas dos últimas estrategias permiten tomar decisiones clínicas que no se basan en las características físicas de los haces, si no que también tienen en cuenta el nivel de control del tumor y el nivel de complicación de los tejidos en riesgo.

7.2.3. Modelo de probabilidad de control tumoral.

7.2.3.1. Distribución de dosis homogénea.

En el trabajo publicado por González et al. [11] en el año 2017 se presentan modelos de probabilidad de control para tratamientos de fotones (TCP_R) y para tratamientos de campos mixtos de radiación como BNCT (TCP). Las expresiones propuestas son válidas para distribuciones de dosis uniformes y tienen en cuenta la reparación de lesiones subletales y la interacción sinérgica entre las principales componentes de dosis de BNCT. Los parámetros de los

modelos se determinaron a partir de curvas de dosis-respuesta obtenidas en irradiaciones de hámsters con fotones y con BNCT. El modelo in vivo de cáncer oral de mejilla de hámster es considerado representativo de cáncer oral en humanos [120, 121, 102, 122]. Por este motivo, el modelo de *TCP* propuesto para BNCT es una buena figura de mérito para evaluar y comprar tratamientos humanos de cáncer de cabeza y cuello.

Uno de los objetivos de la planificación de una terapia radiante, además de maximizar la dosis entregada, es maximizar la homogeneidad con la que la misma se deposita a lo largo del volumen del tumor. En condiciones de homogeneidad, la dosis media es representativa de la dosis total recibida por el tumor. Por este motivo, evaluar un modelo de *TCP* en las condiciones mencionadas, asumiendo que todo el volumen del tumor recibe la dosis media, sería una aproximación razonable. En BNCT, la distribución de la dosis varía significativamente con la profundidad. Sin importar la complejidad del plan de tratamiento y el número de incidencias planificadas, las condiciones de homogeneidad son prácticamente imposibles de conseguir.

7.2.3.2. Distribución de dosis heterogénea.

Los tumores de los pacientes de cáncer de cabeza y cuello que han sido tratados con BNCT son típicamente grandes. Sus tamaños varían entre 20 cm^3 y 400 cm^3 [97, 34, 99]. Para estos casos se han reportado diferencias mayores al 20% entre los valores máximos y mínimos de la dosis entregada al tumor. En estas circunstancias, la dosis media no es representativa de la

distribución de dosis a lo largo de todo su volumen. Por este motivo, evaluar un modelo de probabilidad tumoral utilizando la dosis media no produciría un resultado verosímil.

Para que los modelos de TCP mencionados anteriormente admitan distribuciones de dosis no homogéneas, se aplica la teoría desarrollada en el modelo de subvolúmenes equivalentes publicada en el año 2008 por la misma autora et al. [123]. Dado un conjunto de dosis absorbidas uniformes donde D_1 , D_2 , D_3 y D_4 corresponden a las componentes boro, térmica, rápida y fotón de un campo de radiación mixto de BNCT, la probabilidad de control tumoral (TCP) puede definirse como:

$$TCP(v, D_1, \dots, D_4) = e^{-(c_1 v^{c_2} S(D_1, \dots, D_4))}, \quad (7.3)$$

donde v representa el volumen tumoral (en cm^3), c_1 y c_2 son parámetros que modulan su efecto en la probabilidad de control local y $S(D_1, \dots, D_4)$ es la expresión para la sobrevivencia celular. Aplicando el modelo de subvolumen equivalente a la ecuación 7.3 se obtiene que:

$$TCP_T = e^{-c_1 v^{c_2} \left(\int_T S(D_1(x), \dots, D_4(x)) \frac{1}{c_2} \frac{dx}{v} \right)^{c_2}}, \quad (7.4)$$

donde $D_1(x), \dots, D_4(x)$ representa la dosis absorbida de cada componente en el subvolumen centrado en el punto x . Si se tiene en cuenta el efecto de la interacción sinérgica entre las distintas componentes de dosis se puede escribir que:

$$-\ln(S(D_1(x), \dots, D_4(x))) = \sum_{i=1}^4 \alpha_i D_i(x) + \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^4 G_{ij}(\theta) \sqrt{\beta_i \beta_j} D_i(x) D_j(x), \quad (7.5)$$

donde α_i , β_i y $G_{ij}(\theta)$ son los mismos parámetros definidos en la ecuación 7.2. Para el cálculo de los factores $G_{ij}(\theta)$ se asume una cinética de reparación biexponencial con tiempos de reparación característicos independientes del LET de $24/\ln 2$ minutos y $14/\ln 2$ horas, respectivamente. Las proporciones de las sublesiones reparadas por ambas cinéticas se definen como 0.57 y 0.43 para las componentes de bajo LET ($i=4$), y 0.2 y 0.8 para las componentes de alto LET ($i=1, 2, 3$) según los resultados reportados por Schmid et al. para una línea celular de carcinoma de células escamosas [124].

Finalmente, la expresión general para la probabilidad de control tumoral para distribuciones de dosis de BNCT no homogéneas se obtiene de remplazar 7.5 en 7.4. La tabla 7.2 resume los parámetros radiobiológicos del modelo de TCP para dosis no homogéneas de BNCT que se utilizará a lo largo de este trabajo.

En la figura 7.1 se muestra el efecto de considerar la inhomogeneidad de la dosis recibida por el tumor para el cálculo de TCP. Dado un fantoma cilíndrico de material tejido equivalente con un tumor esférico de radio variable, se realizaron simulaciones computacionales de transporte de neutrones con la fuente del *FiR1* para determinar la distribución de la dosis en tumores de siete radios distintos. Las TCP_1 , TCP_2 y TCP_3 se calcularon asumiendo una distribución uniforme igual a la dosis mínima,

	TCP	
	$c_1 = 22 \pm 19, c_2 = 0.33 \pm 0.09$	
	Alpha (Gy^{-1})	Beta (Gy^{-2})
⁶⁰Co o 6MV LINAC		
Radiación de referencia	0.029 ± 0.008	0.0029 ± 0.0008
FCCT (reactor RA-3)		
fotones	0.029 ± 0.008	0.0029 ± 0.0008
neutrones	0.37 ± 0.03	$(8.8 \pm 2.2) \times 10^{-9}$
Boro (L-BPA-F)	0.34 ± 0.03	$(8.3 \pm 3.1) \times 10^{-9}$

Tabla 7.2: Parámetros radiobiológicos del modelo de TCP ($\pm 1SD$) para la radiación de referencia y para BNCT basados en modelo in vivo de cáncer oral de mejilla de hámster [11].

media y máxima, respectivamente. Para la TCP_4 se consideró la distribución de dosis completa.

El ejemplo revela que la inhomogeneidad de la dosis afecta progresivamente a la TCP a medida que aumenta el radio del tumor. Esto se debe a que la distribución de la dosis varía de forma significativa con la profundidad. La TCP obtenida a partir de considerar una distribución uniforme igual a la dosis media (TCP_2) sobrestima a la verdadera TCP que se obtiene considerando la distribución completa (TCP_4). Al mismo tiempo, si se considera una distribución uniforme igual a la dosis mínima (TCP_1) el efecto real se está subestimando. El hecho de que la TCP_4 siempre esté entre TCP_1 y TCP_2 demuestra que el verdadero valor de la TCP tiene una fuerte influencia por las dosis más bajas.

La dosis promedio por sí sola puede no tener una relevancia clínica clara y la TCP basada en las dosis mínimas podría subestimar considerablemente la

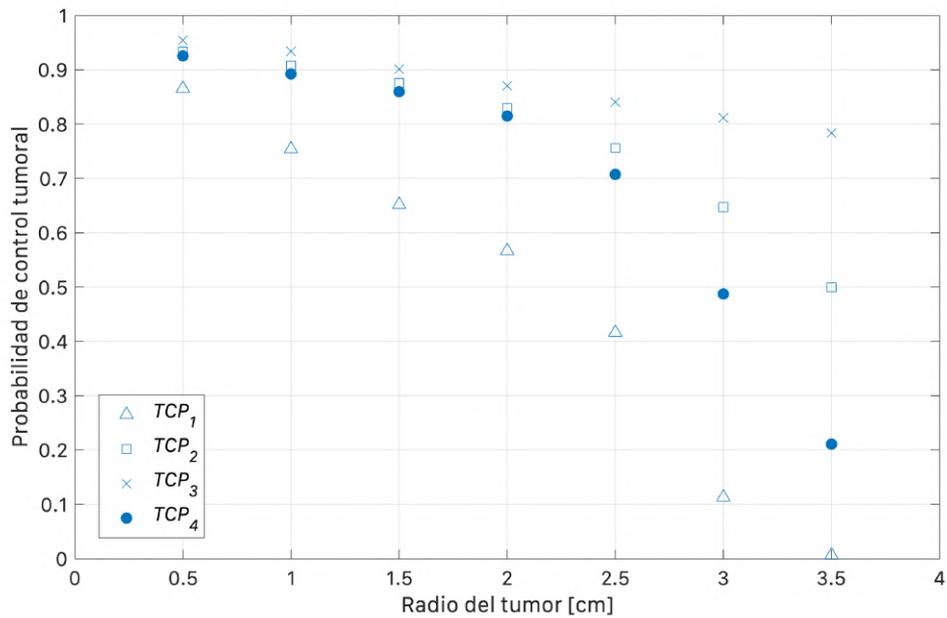


Figura 7.1: Probabilidad de control tumoral para tumores esféricos modelados en un fantoma cilíndrico. Las TCP_1 , TCP_2 y TCP_3 se obtuvieron asumiendo distribuciones de dosis uniformes iguales a la dosis tumoral mínima, media y máxima, respectivamente. La TCP_4 se calculó utilizando la distribución de dosis de tumor completo.

probabilidad real de control tumoral. Por lo tanto, un modelo que considere la distribución de dosis tumoral completa permite una evaluación más realista del potencial terapéutico del haz de neutrones.

7.2.4. Modelo de probabilidad de complicación de tejido normal.

La mucositis oral es uno de los efectos adversos de toxicidad más común en los tratamientos radiantes de tumores de cabeza y cuello. Se caracteriza por deteriorar la mucosa oral y desarrollar ulceraciones que producen dolor y

desmejoran la calidad de vida del paciente. Se trata de una complicación que se presenta en distintos grados de gravedad. Según la bibliografía consultada, la mucositis de grado igual o mayor a tres ($\geq G3$) se considera motivo clínico para interrumpir un tratamiento radiante. Esto se debe principalmente a la imposibilidad de contrarrestar los efectos con prácticas asistenciales primarias como el uso de corticoides [125, 126, 127].

En González et al. (2017) se propone un modelo de probabilidad de complicación en tejido normal capaz de predecir mucositis $\geq G3$ luego de la aplicación de un tratamiento radiante de campos mixtos como BNCT [11]. El mismo se obtiene de evaluar el modelo de NTCP para fracción única de fotones utilizando el formalismo de dosis iso-efectiva a fotones.

El modelo propuesto para fracciones única de fotones se define en la ecuación 7.6

$$NTCP(D_R) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{s'} \exp\left(-\frac{t^2}{2}\right) dt, \quad (7.6)$$

donde

$$s' = \frac{\frac{D_R \left(1 + \frac{D_R G_R(\theta)}{(\alpha/\beta)_R}\right)}{\left(1 + \frac{2 G_R(\theta)}{(\alpha/\beta)_R}\right)} - TD_{50}}{mTD_{50}}. \quad (7.7)$$

En la ecuación 7.7 $(\alpha/\beta)_R$ es la relación de los coeficientes del modelo lineal cuadrático para fracción única, m es la pendiente de la curva de $NTCP$ vs. D y TD_{50} es la dosis de tolerancia aceptable para evitar una complicación con

	NTCP	
	m=0.17†, TD ₅₀ =39.8 Gy†	
	Alpha (Gy ⁻¹)	Beta (Gy ⁻²)
⁶⁰Co o 6MV LINAC		
Radiación de referencia	0.35†	0.035†
FCCT (reactor RA-3)		
fotones	0.35†	0.035†
neutrones	2.47 ± 0.03	(1.0 ± 2.0) × 10 ⁻¹⁷
Boro (L-BPA-F)	3.09 ± 0.03	(7.0 ± 2.1) × 10 ⁻¹⁷

† Strigari et al.[126]

Tabla 7.3: Parámetros radiobiológicos del modelo de NTCP ($\pm 1SD$) para la radiación de referencia y para BNCT basados en modelo in vivo de cáncer oral de mejilla de hámster [11].

una probabilidad de 0.5. Los valores de $(\alpha/\beta)_R$, m y TD_{50} iguales a $10 Gy$, 0.17 y $39.8 Gy$ respectivamente, se determinaron a partir de Strigari et al. [126]. El factor de tiempo G_R se determinó para tiempos característicos de reparación rápida y lenta de $t_{0f} = 27/\ln 2$ minutos y $t_{0s} = 150/\ln 2$ minutos [128].

Finalmente, para el caso de BNCT, la probabilidad de complicación de tejido normal se obtiene evaluando D_R de la ecuación 7.7 por $D_R(D_1, \dots, D_4)$ de la ecuación 7.2. En la tabla 7.3 se listan los parámetros radiobiológicos del modelo de NTCP utilizados en este trabajo.

7.2.5. Análisis retrospectivo de casos clínicos.

El análisis retrospectivo de casos clínicos tratados originalmente en Finlandia cumple dos roles centrales en este trabajo. Por un lado, aporta

información relevante a la evaluación del potencial del *haz B2* para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello. Por otro, permite demostrar las ventajas de utilizar figuras de mérito radiobiológicas para evaluar el desempeño terapéutico de haces de campos mixtos.

Durante la fase I y II de los ensayos clínicos de BNCT llevados a cabo en la ciudad de Helsinki, se trataron 30 pacientes con cáncer de cabeza y cuello inoperable de recurrencia local [34]. En líneas generales, los pacientes recibieron dos tratamientos administrados en intervalos de tres a cinco semanas basados en el uso del compuesto borado BPA. Las irradiaciones se realizaron en el reactor finlandés *FiR1* (250 kW Triga Mark II). Esta facilidad cuenta con un haz de neutrones epitérmicos con una baja tasa de neutrones rápidos y de fotones. El flujo epitérmico y las dosis específicas de fotones y de neutrones rápidos reportados para *FiR1* son de $1.1 \times 10^9 \text{ n/cm}^2\text{s}$, $0.5 \times 10^{-13} \text{ Gy/cm}^2\text{s}$, y $2.0 \times 10^{-13} \text{ Gy/cm}^2\text{s}$, respectivamente [129].

Entre los casos tratados, se eligieron tres candidatos para hacer un análisis retrospectivo a partir de simulaciones computacionales. El objetivo de este análisis es comparar los tratamientos originales con tratamientos hipotéticos utilizando el *haz B2* de la facilidad de BNCT del reactor argentino RA-6. Los casos se eligieron teniendo en cuenta la localización y el volumen de los tumores. La figura 7.2 muestra los pacientes elegidos y la tabla 7.4 muestra los volúmenes de los tumores y la respuesta al tratamiento de tres carcinomas de células escamosas después de dos aplicaciones de BNCT separadas por un intervalo de tres semanas.

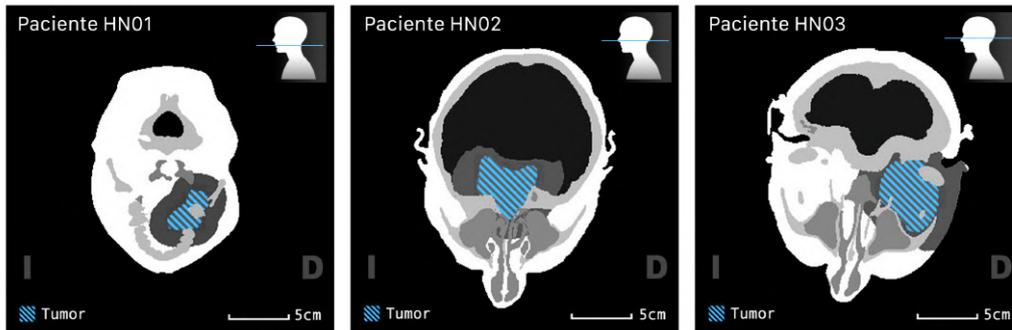


Figura 7.2: Tomografías segmentadas de los pacientes seleccionadas para el análisis retrospectivo.

Pacientes	Tumor(GTV) [cm^3]	Respuesta Tumoral
HN01	14	Respuesta Completa
HN02	83	Enfermedad Estable
HN03	116	Enfermedad Estable

Tabla 7.4: Características generales de los pacientes elegidos para el análisis retrospectivo [34].

7.2.5.1. Construcción de las simulaciones de MCNP.

Al igual que las planificaciones de los tratamientos de pacientes caninos discutidas en el capítulo anterior, el estudio dosimétrico retrospectivo de casos clínicos tratados en el reactor *FiR1* se llevó acabo a través de simulaciones computacionales. En este caso, el objetivo es comparar la dosimetría entregada a los pacientes durante el tratamiento original con aquella recibida en un tratamiento hipotético utilizando el *haz B2* del reactor RA-6.

La dosimetría original se recuperó a partir de bases de datos provistas por científicos finlandeses que participaron en la ejecución de los tratamientos.

Dado que los ensayos clínicos se realizaron hace más de 10 años, recuperar la información no fue trivial y requirió del desarrollo de herramientas computacionales capaces de interpretar archivos generados por programas obsoletos. Además, por cuestiones de privacidad de los pacientes no se dispuso de las tomografías originales. Las mismas fueron sustituidas por un conjunto de imágenes generadas por el planificador de tratamientos SERA. Estas imágenes consisten en cortes equivalentes a los tomográficos pero que solo muestran la segmentación de las regiones anatómicas de interés clínico marcadas por los médicos.

Las máscaras segmentadas se emplearon para crear los modelos voxelizados de los pacientes en lenguaje MCNP. Para esta tarea se utilizó un programa llamado Multicell desarrollado en el departamento de dosimetría computacional del proyecto argentino de BNCT [46]. Entre otras funciones, Multicell genera modelos voxelizados en lenguaje MCNP a partir de imágenes médicas tridimensionales. Es capaz de variar convenientemente las dimensiones de los vóxeles para producir modelos de alta resolución minimizando el número de vóxeles utilizados. Esta estrategia de reconstrucción tiene la ventaja de que acorta los tiempos de simulación de transporte de partículas.

Una vez generados los modelos tridimensionales de los pacientes se definieron las distintas posiciones del modelo del *haz B2* recreando los mismos campos de irradiación empleados en los ensayos clínicos originales. Además, se incorporaron matrices de estimadores cúbicos superpuestas a cada uno de los modelos para medir las tasas de dosis absorbida de las cuatro

componentes de dosis de BNCT. Por último, se simuló por método de Monte Carlo el transporte de un número de partículas suficiente para alcanzar la convergencia estadística de las estimaciones.

7.2.5.2. Análisis dosimétrico.

Para analizar los resultados obtenidos en las simulaciones de MCNP se desarrolló un programa que reúne una serie de herramientas que facilitan la tarea. El programa se nombró BnctAR: Dosimetry Tool. Entre sus características principales se destacan las siguientes:

- **Datos dosimétricos de entrada:** El programa admite matrices de dosis absorbidas resultantes de simulación de transporte de las planificaciones originales en SERA y de las simulaciones del *haz B2* generadas en Multicell y MCNP. Se pueden cargar hasta dos fracciones de dos campos cada una.
- **Imágenes médicas del paciente:** Requiere el uso de máscaras segmentadas para visualizar las distribuciones de dosis sobre la anatomía de los pacientes y estudiar la dosimetría en cada una de las regiones de interés.
- **Motores de cálculo:** Permite el cálculo y visualización de dosis absorbidas, dosis fotón equivalente (modelo clásico de RBE fijo) y dosis iso-efectiva a fotones.
- **Visualización de datos:** Los resultados se pueden visualizar en

escala de colores sobre las imágenes médicas del paciente. Además, se pueden generar histogramas acumulados de dosis volumen de los órganos segmentados.

- **Prescripción y cálculo de tiempo de irradiación:** Ofrece herramientas para la búsqueda de máximos locales y para calcular tiempos de irradiación según la prescripción de dosis determinada por el usuario.
- **Figuras de mérito radiobiológicas:** Permite el cálculo de NTCP para mucositis de grado igual o mayor a 3 y de TCP de carcinomas de células escamosas.

BnctAR se utilizó satisfactoriamente para analizar la dosimetría de los tratamientos originales y de las simulaciones con el *haz B2*. Para cada caso se calcularon y compararon las dosis recibidas por los tumores y por las mucosas asumiendo relaciones de concentración de boro tumor/sangre y mucosa/sangre de 3.5:1 y 2:1, respectivamente [34]. Los factores de peso radiobiológicos para el cálculo de dosis equivalentes estándar se asumieron al igual que en Kankaanranta et al. (2012) [34].

El formalismo de dosis iso-efectiva a fotones desarrollado en la sección 7.2.1 se utilizó para calcular la dosis de los tumores. Como se mencionó anteriormente, los pacientes recibieron dos aplicaciones de BNCT con intervalos de tres a cinco semanas. Por este motivo, las dosis recibidas por los tumores se calcularon para cada una de las aplicaciones y para la combinación de ambas asumiendo que el efecto en el tumor es acumulativo.

Las distribuciones tridimensionales no homogéneas de dosis iso-efectivas recibidas por los tumores se utilizaron para evaluar el modelo de TCP propuesto en la sección 7.2.3. Los resultados se compararon con el efecto de los tratamientos reportados en la tabla 7.4.

Según el protocolo de tratamiento finlandés, el tiempo de irradiación está estrictamente limitado por la dosis absorbida máxima en la membrana mucosa. Para cada una de las aplicaciones del tratamiento, la dosis máxima que puede recibir este tejido es de 6 Gy . En el análisis retrospectivo empleando el *haz B2* se utilizaron dos criterios distintos para determinar los tiempos de irradiación:

- **Criterio 1:** El primer criterio consistió en establecer el tiempo de irradiación necesario para obtener la misma dosis absorbida máxima que la obtenida durante cada una de las aplicaciones del tratamiento original con el *FiR1*.
- **Criterio 2:** Dado que el *haz B2* y el *FiR1* tienen composiciones neutrónicas distintas, las contribuciones relativas de cada una de las componentes de dosis de BNCT al máximo de dosis absorbida también son distintas. Como el efecto en el tejido depende de las proporciones de dosis de cada componente, el segundo criterio consistió en determinar el tiempo de irradiación necesario para obtener el mismo valor de NTCP en la membrana mucosa en cada una de las aplicaciones de BNCT.

7.3. Resultados y discusión.

7.3.1. Dosimetría original de los pacientes tratados con el reactor FiR1.

En la tabla 7.5 se pueden observar los tiempos de irradiación y las concentraciones de boro efectivas infundidas a los pacientes durante los tratamientos originales. En estas condiciones, los pacientes recibieron las dosis absorbidas máximas en mucosa reportadas en la tabla 7.6. Las mismas se calcularon asumiendo que la mucosa capta dos veces la concentración de boro de la sangre. Además se reportan las contribuciones relativas de cada una de las componentes de dosis en el punto de prescripción y por último, la probabilidad de mucositis de grado igual o mayor que tres.

Pacientes		Tiempo de irradiación [min]	Concentración de boro en sangre [ppm]
HN01	BNCT 1	49	19
	BNCT 2	60	17
HN02	BNCT 1	42	16
	BNCT 2	46	13
HN03	BNCT 1	45	18
	BNCT 2	46	16

Tabla 7.5: Tiempos de irradiación y concentración de boro efectiva en sangre para cada aplicación del tratamiento original [34].

Pacientes		Dosis Absorbida máxima en mucosa [Gy]	Contribución relativa (f_b, f_n, f_g)	NTCP ($\geq G3$)
HN01	BNCT 1	5.8	(0.73, 0.07, 0.20)	0.46
	BNCT 2	5.3	(0.68, 0.09, 0.23)	0.12
HN02	BNCT 1	4.3	(0.69, 0.08, 0.23)	0.005
	BNCT 2	4.3	(0.63, 0.10, 0.27)	0.003
HN03	BNCT 1	5.9	(0.73, 0.07, 0.20)	0.48
	BNCT 2	5.7	(0.70, 0.08, 0.22)	0.32

Tabla 7.6: Contribuciones relativas de las componentes de boro (f_b), neutrones (f_n) y gamma (f_g) a la dosis absorbida en el punto de prescripción para el FiR1 y la correspondiente probabilidad de complicación en la membrana mucosa.

En la figura 7.3, se muestran las distribuciones de dosis absorbida en la mucosa en las dos aplicaciones del tratamiento para cada uno de los pacientes. Los puntos indicados por la intersección de las líneas verticales y horizontales corresponden a los puntos de referencia en los que la dosis límite fue prescripta.

Los tumores tratados recibieron la dosimetría reportada en la tabla 7.7. Allí se listan las dosis mínimas, medias y máximas calculadas con el modelo estándar y con el modelo de dosis iso-efectiva a fotones para cada una de las aplicaciones y para el tratamiento combinado. En la última columna se muestran las probabilidades de control tumoral calculadas a partir de las distribuciones de dosis iso-efectivas recibidas por cada uno de los tumores.

Las distribuciones de dosis iso-efectivas se pueden observar sobre un corte anatómico central a la izquierda de la figura 7.4. En ellas se puede apreciar la composición de haces sobre las masas tumorales. A la derecha de las imágenes

Pacientes	Dosis Tumor med(máx,mín)		TCP
	RBEw [Gy - Eq]	Iso-efectiva [Gy(IsoE)]	
HN01	BNCT 1	29 (25, 32)	
	BNCT 2	26 (20, 27)	
	Total	55 (45, 59)	38 (34, 39) 0.61
HN02	BNCT 1	20 (15, 26)	
	BNCT 2	17 (13, 23)	
	Total	37 (28, 49)	30 (26, 35) 0.01
HN03	BNCT 1	33 (16, 46)	
	BNCT 2	32 (17, 44)	
	Total	65 (34, 90)	41 (29, 50) 0.25

Tabla 7.7: Dosimetría de los tumores tratados en el *FiR1*.

se muestran los histogramas acumulados de dosis-volumen de cada uno de los tumores. El histograma acumulados de dosis-volumen permite juzgar la homogeneidad de la distribución de dosis de forma sencilla. Cada punto $[x, y]$ de la curva se puede interpretar como el porcentaje de volumen y que recibe como máximo la dosis x . De este modo resulta que a mayor homogeneidad, mayor será la pendiente de caída de la curvas.

Si bien validar el poder predictivo de los modelos de NTCP y TCP implicaría el análisis de un número de casos mayor, a rasgos generales se puede observar que las probabilidades calculadas son consistentes con las respuestas observadas.

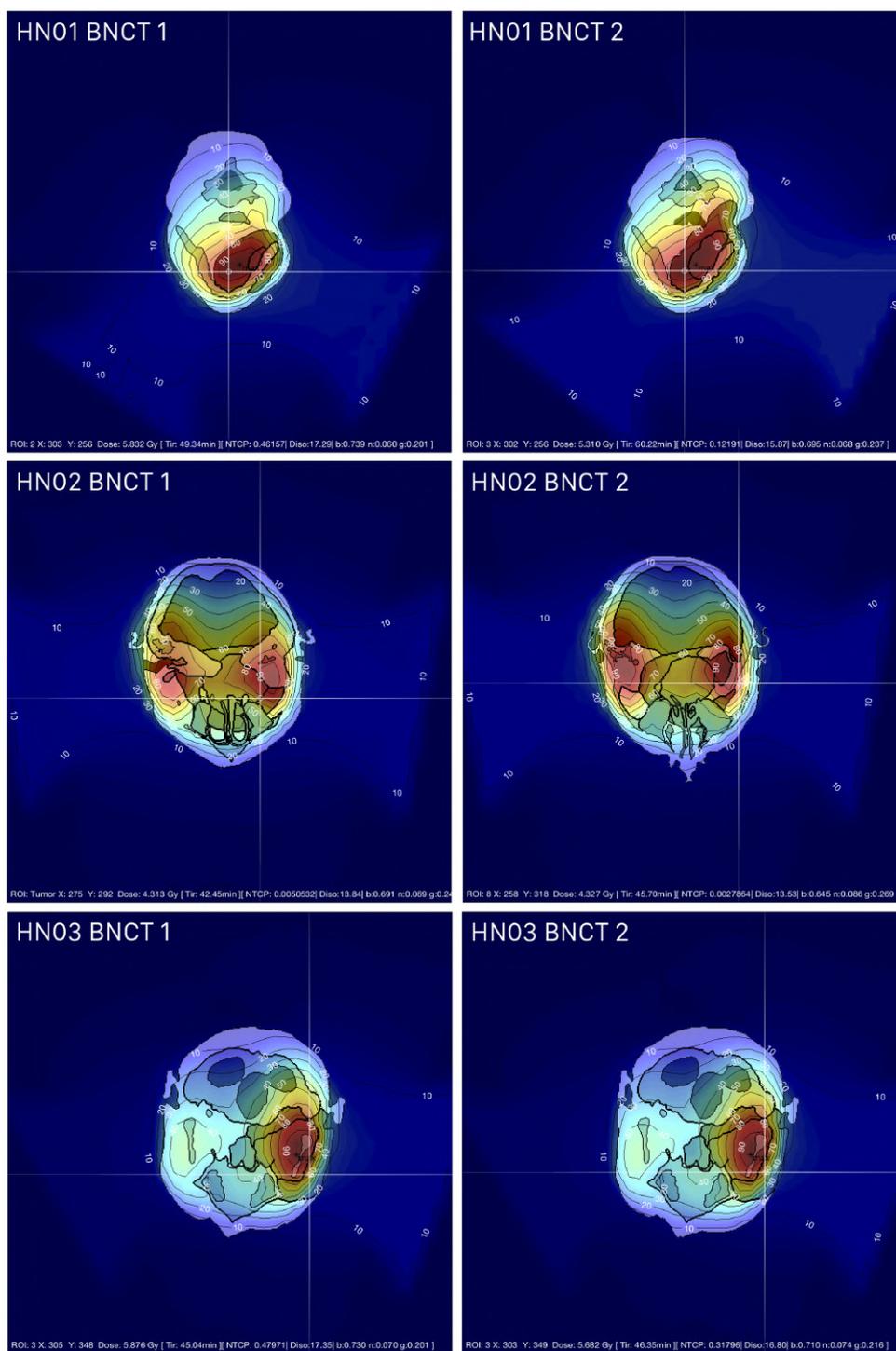


Figura 7.3: Distribución de dosis absorbidas en los pacientes tratados con el FiR1.

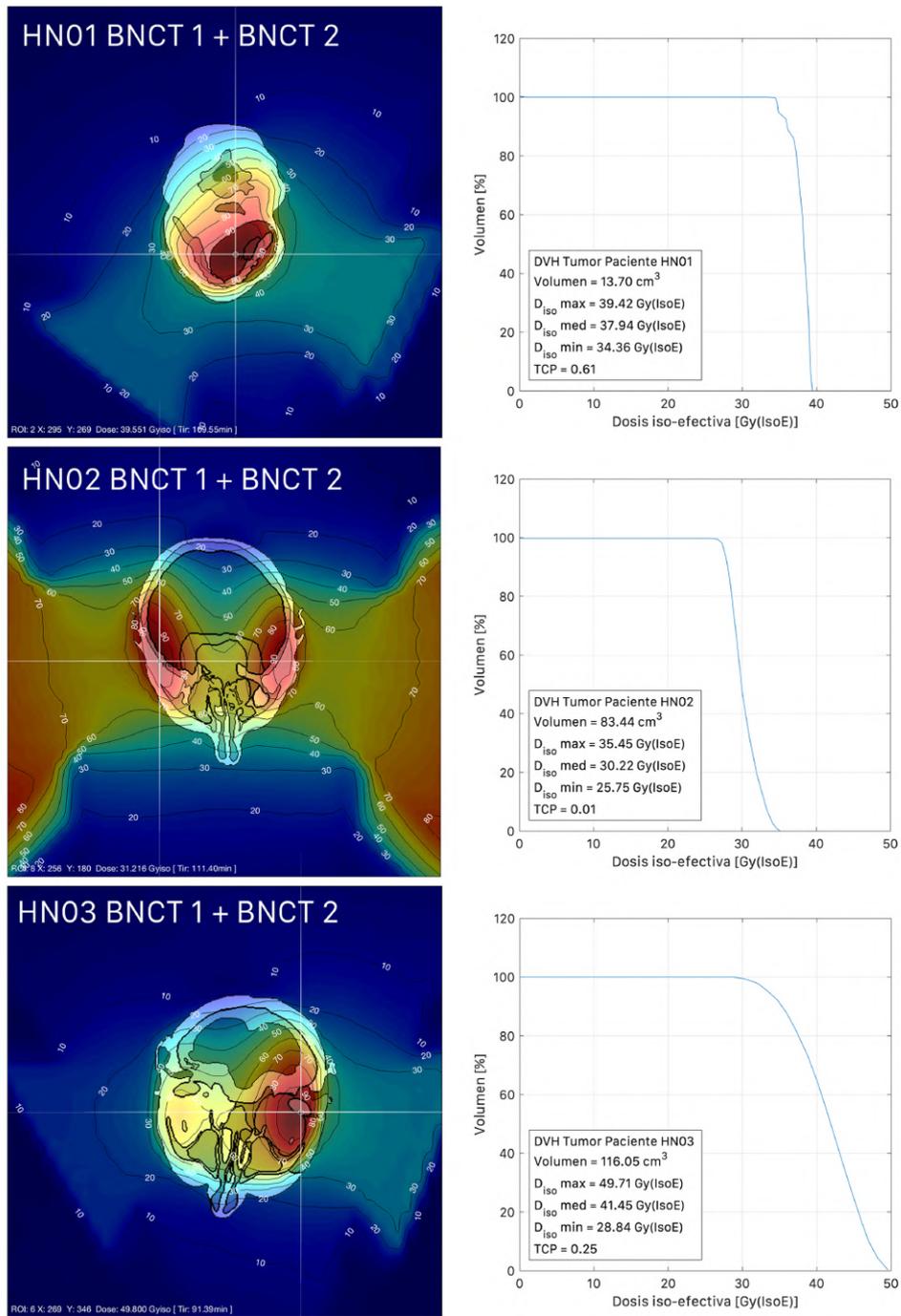


Figura 7.4: Distribución de dosis tumor iso-efectiva en los pacientes tratados con el FiR1.

7.3.2. Dosimetría simulada utilizando el haz B2 del reactor RA-6.

Como se mencionó en la sección 7.2.5.2, para simular el tratamiento de los pacientes finlandeses en la facilidad del reactor RA-6 se establecieron dos criterios de prescripción distintos. De acuerdo al *Criterio 1* se determinaron los tiempos de irradiación (t_{ir}) reportados en la tabla 7.8. Estos corresponden al tiempo necesario para alcanzar las mismas dosis absorbidas en el punto máximo de mucosa que los tratamientos originales. En la tabla 7.8 también se muestran dichas dosis absorbidas junto a las componentes relativas de dosis en los puntos de prescripción y las probabilidades de mucositis de grado mayor o igual a 3.

Pacientes	t_{ir} [min]	Dosis Absorbida máx. en mucosa [Gy]	Contribución relativa (f_b, f_n, f_g)	NTCP ($\geq G3$)	
HN01	BNCT 1	66	5.8	(0.48, 0.09, 0.43)	0.01
	BNCT 2	71	5.3	(0.43, 0.10, 0.47)	0.001
HN02	BNCT 1	60	4.3	(0.43, 0.09, 0.47)	2×10^{-5}
	BNCT 2	51	4.3	(0.45, 0.10, 0.45)	3×10^{-5}
HN03	BNCT 1	50	5.9	(0.54, 0.09, 0.37)	0.05
	BNCT 2	51	5.7	(0.51, 0.10, 0.39)	0.02

Tabla 7.8: Contribuciones relativas de las componentes de boro (f_b), neutrones (f_n) y gamma (f_g) a la dosis absorbida en el punto de prescripción para el haz B2 empleando el Criterio 1 y la correspondiente probabilidad de complicación en la membrana mucosa.

Si bien los valores máximos de dosis absorbida son iguales a los del tratamiento original, las probabilidades de complicación en tejido normal de los pacientes simulados con el *haz B2* son mucho menores. Este hecho se debe principalmente a las diferencias entre las contribuciones relativas de la componentes de alto y de bajo LET de cada uno de los haces. El haz del *FiR1* posee una componente de dosis boro (alto LET) mayor que afecta principalmente al tumor. Como se mencionó anteriormente, la severidad del daño biológico depende del tipo de radiación y de los mecanismos físicos de interacción con el tejido vivo. Por este motivo, entregar el mismo valor de dosis absorbida a un tejido no implica provocar el mismo efecto biológico.

En la tabla 7.9 se reporta la dosimetría de los tumores en las condiciones de tratamiento prescritas según el *Criterio 1*. En comparación con los tratamientos originales, los tumores reciben dosis desde 10 % hasta 50 % más bajas. Esto se debe principalmente a que en comparación con el *FiR1*, el *haz B2* es una haz mucho menos penetrante e intenso. Las dosis bajas tienen un efecto directo sobre la probabilidad de control tumoral, que como se pueden observar, también son significativamente más bajas que las del tratamiento original.

Las diferencias espectrales entre los haces comparados hacen del *Criterio 1* un criterio de prescripción muy conservador. Los valores bajos de NTCP reportados en la tabla 7.8 muestran que aún hay margen para aumentar los tiempos de irradiación sin comprometer los tejidos sanos en riesgo. En el *Criterio 2* se propone limitar el tiempo de tratamiento para igualar las

Pacientes	Dosis Tumor med(máx,mín)		TCP
	RBEw [Gy - Eq]	Iso-efectiva [Gy(IsoE)]	
HN01	BNCT 1	24 (20, 27)	0.25
	BNCT 2	19 (16, 22)	
	Total	44 (38, 49)	
HN02	BNCT 1	12 (9, 18)	3×10^{-9}
	BNCT 2	9 (7, 13)	
	Total	21 (16, 29)	
HN03	BNCT 1	14 (7, 25)	5×10^{-7}
	BNCT 2	18 (7, 14)	
	Total	29 (14, 51)	

Tabla 7.9: Dosimetría entregada a los tumores en los tratamientos simulados empleando el haz B2 del reactor RA-6 según el *Criterio 1*.

probabilidades de complicación en tejido normal.

Los tiempos de irradiación y las dosis absorbidas máximas en mucosa para los tratamientos simulados con el *haz B2* limitados por el *Criterio 2* se encuentran en la tabla 7.10. Como se observó anteriormente, si bien las dosis absorbidas máximas aumentaron entre un 20 % y un 35 %, las probabilidades de efectos adversos igualan a las del tratamiento original. El incremento en los tiempos de irradiación conduce inevitablemente a un aumento de las dosis entregadas a los tumores y, en consecuencia, a un aumento de las probabilidades de control tumoral. La dosimetría resultante en los tumores se puede observar en la tabla 7.11.

Igualar las probabilidades de efectos adversos permite escalar las probabilidades de control tumoral hasta un escenario clínicamente favorable. Para el caso particular del paciente HN01, la nueva estrategia de prescripción permitió alcanzar una TCP ligeramente superior a la del tratamiento original.

Pacientes		t_{ir} [min]	Dosis Absorbida máx. en mucosa [Gy]	Contribución relativa (f_b, f_n, f_g)	NTCP ($\geq G3$)
HN01	BNCT 1	88	7.8	(0.48, 0.09, 0.43)	0.46
	BNCT 2	96	7.2	(0.43, 0.10, 0.47)	0.12
HN02	BNCT 1	82	5.9	(0.43, 0.09, 0.47)	0.005
	BNCT 2	65	5.5	(0.45, 0.10, 0.45)	0.003
HN03	BNCT 1	61	7.2	(0.54, 0.09, 0.37)	0.48
	BNCT 2	63	7.0	(0.51, 0.10, 0.39)	0.32

Tabla 7.10: Contribuciones relativas de las componentes de boro (f_b), neutrones (f_n) y gamma (f_g) a la dosis absorbida en el punto de prescripción para el haz B2 empleando el Criterio 2 y la correspondiente probabilidad de complicación en la membrana mucosa.

Este resultado sugiere que una planificación adecuada permitiría utilizar la facilidad del reactor RA-6 para abordar el tratamiento de tumores de cabeza y cuello con determinadas características. Sin embargo, para el caso de los tumores más grandes y profundos (pacientes HN02 y HN03), la penetración del haz B2 no es suficiente para entregar dosis terapéuticas sin comprometer el tejido limitante.

Pacientes	Dosis Tumor med(máx,mín)		TCP
	RBEw [Gy - Eq]	Iso-efectiva [Gy(IsoE)]	
HN01	BNCT 1	32 (27, 36)	0.67
	BNCT 2	27 (23, 30)	
	Total	59 (50, 66)	
HN02	BNCT 1	16 (13, 25)	1×10^{-5}
	BNCT 2	11 (9, 17)	
	Total	27 (21, 39)	
HN03	BNCT 1	18 (9, 32)	5×10^{-5}
	BNCT 2	18 (9, 30)	
	Total	36 (18, 62)	

Tabla 7.11: Dosimetría entregada a los tumores en los tratamientos simulados empleando el haz B2 del reactor RA-6 según el *Criterio 2*.

7.4. Conclusiones

El proyecto finlandés de BNCT es uno de los más exitosos a nivel mundial en lo que respecta al tratamiento de cáncer de cabeza y cuello con esta terapia. Durante los ensayos clínicos los pacientes fueron satisfactoriamente tratados con el haz del reactor *FiR1*. Desde entonces, este haz se ha convertido en una de las referencias más importantes para el diseño y evaluación de nuevas facilidades de tratamiento.

En este capítulo, se propuso poner a prueba el potencial clínico del *haz B2* para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello haciendo una comparación exhaustiva con el haz del reactor finlandés. En una primera instancia se compararon los parámetros físicos recomendados en el reporte técnico de BNCT publicado por la IAEA en el año 2001. Como dichos parámetros se definieron estrictamente para caracterizar haces epitérmicos, demostraron ser

insuficientes para revelar las características clínicas de haces mixtos como el del reactor RA-6. Por este motivo se planteó la introducción de figuras de mérito radiobiológicas capaces de medir la probabilidad de ocurrencia de efectos asociados al poder terapéutico de los haces. Se introdujo un modelo de probabilidad de complicación de tejido normal y se extendió un modelo de probabilidad de control tumoral para que contemple las distribuciones de dosis no homogéneas características de BNCT.

Los modelos presentados se utilizaron para hacer un análisis retrospectivo de tres casos de pacientes tratados con el *FiR1*. Se desarrollaron distintos códigos que permitieron recuperar y analizar la información dosimétrica original, y se simularon los escenarios de tratamiento reemplazando el haz del *FiR1* por el *haz B2*. Las nuevas estrategias de análisis revelaron que la igualación de efectos biológicos en tejidos normales resulta ser un criterio de prescripción de dosis más justo a la hora de comparar distintos tratamientos.

Los parámetros físicos recomendados por la IAEA nunca podrían haber revelado la ventana de posibilidades que ofrece el *haz B2* para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello. En cambio, las figuras de mérito radiobiológicas, demostraron que si bien el potencial es limitado, utilizando estrategias de planificación adecuadas, es posible emplear la facilidad del reactor RA-6 para tratar lesiones de volúmenes acotados y relativamente superficiales (~ 2 cm de profundidad).

8

Nuevas estrategias de evaluación de tratamientos

En el capítulo anterior se demostraron las ventajas de emplear figuras de mérito radiobiológicas para la evaluación de haces de tratamiento de BNCT. A diferencia de los parámetros físicos convencionales, estas figuras permiten evaluar haces de características espectrales distintas de forma justa y realista.

Los modelos de TCP y NTCP proveen información directa acerca de los aspectos más relevantes de un tratamiento radiante: el daño tumoral y la preservación de los tejidos sanos en riesgo. En este capítulo se propone converger la información provista por los dos modelos en un único criterio unificado. Esta nueva estrategia de evaluación esta basada en una función simple diseñada para maximizar la probabilidad de control tumoral y minimizar la probabilidad de complicación de tejido normal. De este modo se puede juzgar el potencial terapéutico de haces de tratamiento contemplando simultáneamente su alcance y sus limitaciones.

Para explorar las capacidades del criterio propuesto, éste se aplicó sistemáticamente al estudio y a la comparación de distintos haces de tratamiento en un escenario ficticio simplificado. Se definió un fantoma cilíndrico de material tejido equivalente sobre el cual se realizaron simulaciones de transporte de neutrones utilizando distintas fuentes y posicionamientos. Los resultados obtenidos permitieron evaluar el desempeño clínico de los haces estudiados para distintas localizaciones y tamaños de tumor.

8.1. Introducción.

8.1.1. UTCP: Probabilidad de control tumoral sin complicaciones.

Como se mencionó con anterioridad, juzgar el desempeño clínico de un haz de BNCT no solo depende de las características físicas del haz estudiado. Dada la complejidad de la naturaleza del cáncer y de la interacción de la radiación con la materia viva, el efecto biológico de una terapia radiante depende tanto del haz de tratamiento como del tipo de lesión que se desea tratar. Además, según la localización anatómica del tumor, su exposición estará limitada por la tolerancia de los tejidos sanos que lo rodean.

La evaluación de haces de BNCT implica la especificación del contexto clínico del tratamiento. Este hecho ya se evidenciaba de alguna manera en los

parámetros propuestos por el reporte de la IAEA del año 2001. Allí, tanto las figuras de mérito como sus valores de referencia fueron determinados a partir de la experiencia clínica internacional en el tratamiento de glioblastoma multiforme con haces de neutrones epitérmicos. Por este motivo, como se demostró en el capítulo 6, estos parámetros no permiten comparar haces con características espectrales diferentes de forma justa.

En el capítulo 7 se introdujeron dos modelos de probabilidad de efectos biológicos específicamente diseñados para BNCT. Debido a que la motivación particular de este trabajo, en parte, es evaluar el potencial de reactor RA-6 para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello, los parámetros radiobiológicos que caracterizan ambos modelos se determinaron para efectos relacionados con la terapia de este tipo de cáncer. De todas maneras, a partir de los experimentos de sobrevida adecuados, el uso de los modelos se puede extrapolar a cualquier conjunto de tejidos de interés.

El uso de estos modelos presenta ventajas claras para la comparación de haces de tratamientos. El nivel de tolerancia a la radiación de los tejidos sanos que limitan el tiempo de irradiación no depende de las características espectrales de los haces. Es por eso que en el caso de haces mixtos, utilizar un valor límite de NTCP para igualar el efecto biológico en la comparación de dos tratamientos es más justo que una prescripción basada en la limitación de la dosis absorbida total. El efecto de sinergia entre las componentes de un haz provoca que, a un mismo valor alcanzado de dosis absorbida, haces de composiciones distintas produzcan efectos biológicos muy diferentes.

El mismo concepto se extiende al efecto biológico producido en el tumor. Dado un límite de NTCP, el verdadero potencial terapéutico de los haces queda revelado por la probabilidad de control tumoral. En estos términos, la eficiencia de un tratamiento radiante depende de minimizar la probabilidad de complicación de tejido normal y maximizar la probabilidad de control tumoral.

Como se trata de modelos de probabilidad de ocurrencia de efectos distintos, la TCP y la NTCP se pueden combinar en único parámetro capaz de comprender simultáneamente los beneficios y limitaciones de un tratamiento. Este parámetro se conoce como probabilidad de control tumoral sin complicaciones (UTCP) y se define como la probabilidad de controlar un tumor sin comprometer la integridad de un tejido sano expuesto. Asumiendo que el control tumoral y las complicaciones del tejido normal son procesos estadísticos independientes, la UTCP puede escribirse:

$$UTCP = TCP(1 - NTCP). \quad (8.1)$$

Por definición, la UTCP puede tomar valores entre 0 y 1. Cuanto mayor sea su valor, mayor será la probabilidad de controlar el tumor sin comprometer el tejido sano en riesgo. En términos clínicos, puede ser interpretada como la fracción esperada de pacientes curados sin efectos adversos de un grupo de casos idealmente idénticos.

Tanto la TCP como la NTCP dependen de la dosis depositada en el tumor

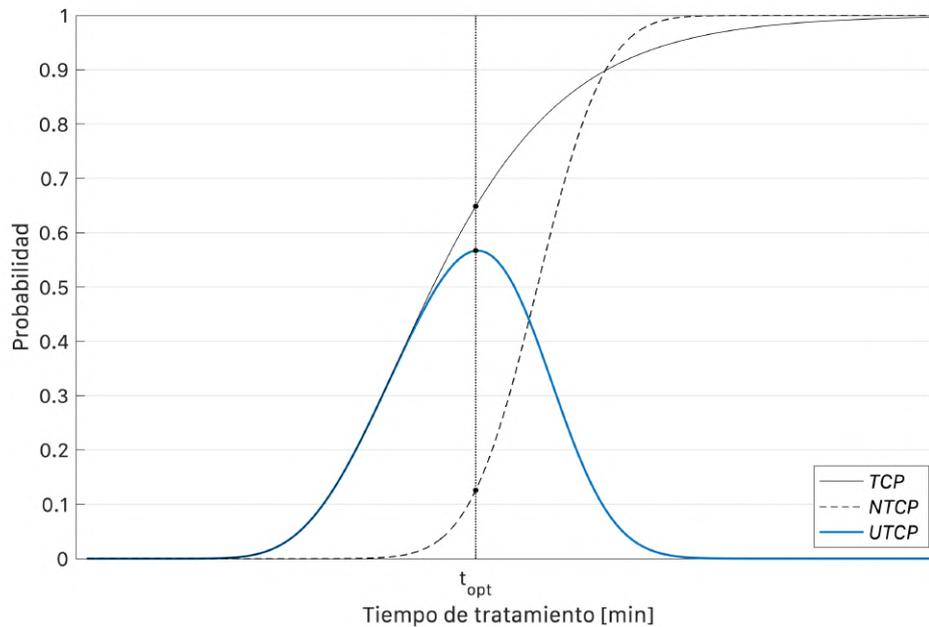


Figura 8.1: Probabilidad de control tumoral sin complicaciones (UTCP) en función del tiempo de irradiación.

y en el tejido en riesgo. A su vez, durante el tratamiento, la dosis escala linealmente con el tiempo de irradiación. En la figura 8.1 se puede ver un ejemplo esquemático de la UTCP en función del tiempo de irradiación para un tratamiento estándar. Como se puede observar, a partir de esta curva, se puede calcular el tiempo óptimo para el cual la probabilidad de control tumoral sin complicaciones es máxima.

El tiempo de irradiación óptimo permite definir de alguna manera el tratamiento más eficiente posible en términos del control tumoral y de las complicaciones en los órganos de riesgo. Si bien en la práctica es posible aumentar el riesgo de provocar efectos secundarios en beneficio de incrementar la probabilidad de control tumoral, el tiempo óptimo establece

un punto de referencia a partir del cual se pueden tomar decisiones clínicas razonables.

El valor que toma la UTCP en el tiempo óptimo también es una excelente figura de mérito para hacer comparaciones. Dado un escenario clínico común, la comparación de las UTCP óptimas resultantes de analizar casos que presenten alguna variación permite establecer qué variante se desempeñará mejor clínicamente. Este criterio se puede emplear para comparar un amplio espectro de variantes que incluye a los haces de tratamiento, las posiciones de los pacientes y hasta los compuestos borados utilizados.

8.1.2. Estudio sistemático en caso estándar.

En este capítulo se presenta el estudio sistemático de cuatro haces de tratamiento con características particulares empleando la optimización de la UTCP como criterio de evaluación y comparación. Este estudio se llevó a cabo simulando la irradiación de un fantoma cilíndrico de material tejido equivalente. El análisis dosimétrico se realizó considerando tumores esféricos de distintas dimensiones y la dosimetría resultante se utilizó para evaluar los modelos radiobiológicos de TCP, NTCP y UTCP.

Anteriormente se definió el desempeño terapéutico de un haz de tratamiento como la combinación entre su potencial terapéutico y su versatilidad. Dado un escenario clínico específico, el potencial terapéutico de un haz se define como su capacidad de controlar el tumor sin comprometer los tejidos sanos circundantes. La versatilidad, por otro lado, está relacionada

con la variedad de escenarios clínicos para los cuales el potencial terapéutico es aceptable. En un sentido amplio, el propósito general de este estudio no se limita únicamente a comparar el desempeño terapéutico de los haces, sino que también se pretende explorar el alcance del procedimiento propuesto.

8.2. Materiales y métodos.

8.2.1. Comparación de haces de tratamiento.

El criterio de evaluación presentado en la sección anterior se utilizó para comparar cuatro haces de tratamiento con características espectrales muy diferentes. Los dos primeros haces consistieron en aquellos que ya fueron presentados en capítulos anteriores: el *haz B2* del reactor argentino RA-6 y el haz del reactor finlandés *FiR1* [30, 129]. Ambos haces fueron utilizados en ensayos clínicos con seres humanos. Además, en esta comparación se incorporaron dos nuevos prototipos de haces epitérmicos. Uno de ellos, denominado *haz B3*, trata del *haz B2* modificado para el tratamiento de lesiones más profundas. El último haz estudiado, a diferencia de todos los anteriores basados en reactores nucleares, se trata de un haz de neutrones proveniente de un acelerador de protones de cuadrupolos de radiofrecuencia. Este haz se denomina *RFQ* y fue desarrollado por el Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) de Italia.

En la figura 8.2 se puede apreciar la comparación de los espectros de energía

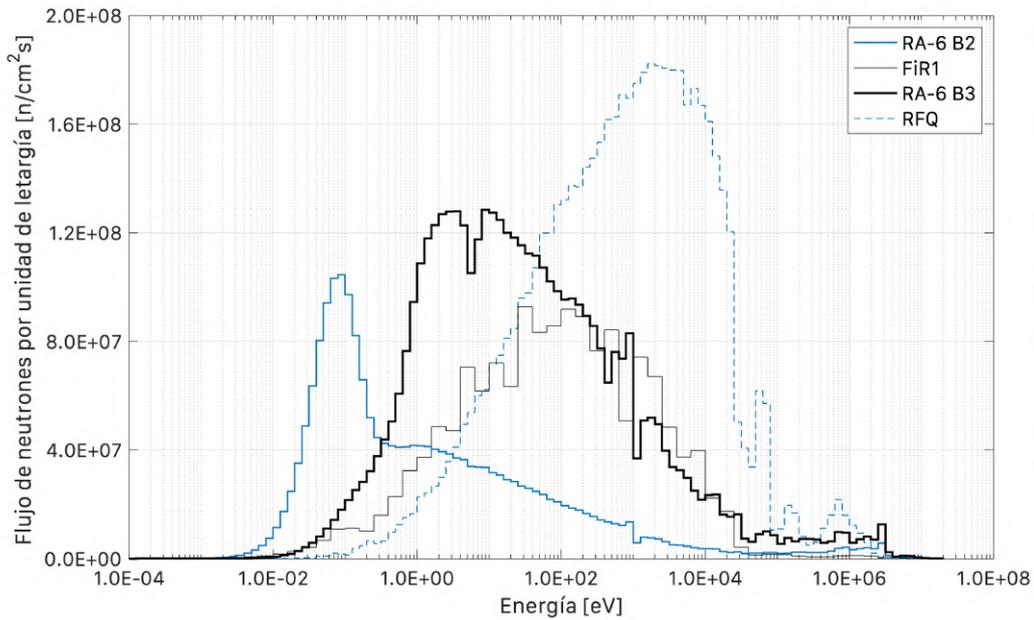


Figura 8.2: Comparación de los espectros de energía de los haces de neutrones *B2*, *B3*, *FiR1* y *RFQ*.

de los haces estudiados mientras que en la figura 8.3 se comparan los perfiles de flujo de neutrones térmicos en un fantoma cúbico de agua. Los resultados reportados se obtuvieron a partir de simulaciones de MCNP con incertezas estadísticas menores al 1%.

A continuación se resumen las características generales de los haces *FiR1*, *B3* y *RFQ*. Las características del haz *B2* se reportaron anteriormente en la sección 6.2.1.

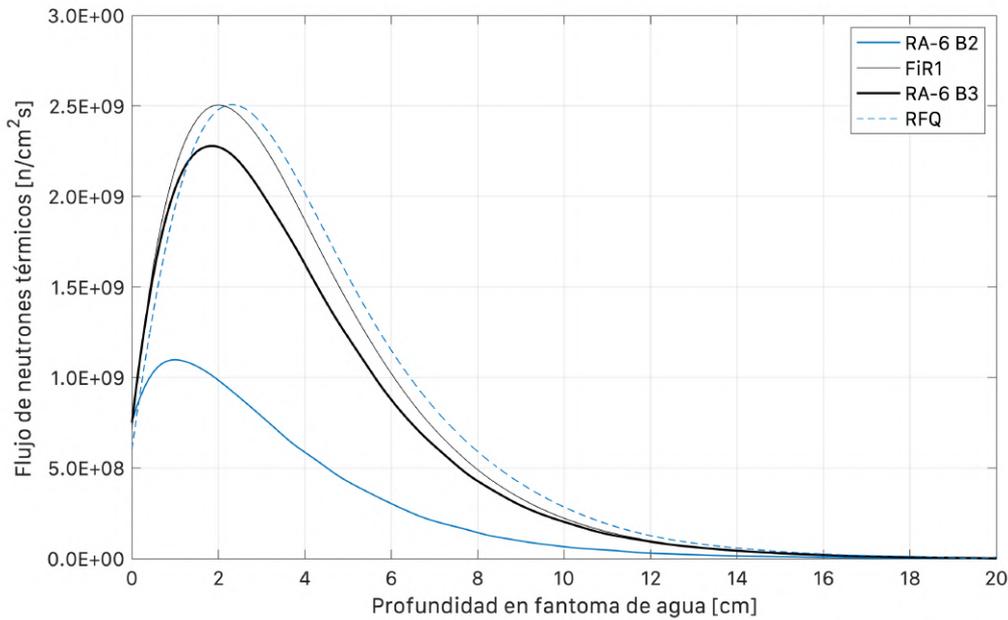


Figura 8.3: Comparación de los perfiles de flujo neutrónico térmico en fantoma de agua de los haces *B2*, *B3*, *FiR1* y *RFQ*.

8.2.1.1. Reactor FiR1.

Por los motivos históricos ya mencionados, el haz *FiR1* es el haz epitérmico de referencia en este estudio. Pertenece a la facilidad de tratamiento del reactor de investigación TRIGA del *Technical Research Centre of Finland (VTT)*, donde fueron tratados con BNCT más de 250 pacientes de cuales más de 100 padecían cáncer de cabeza y cuello [34, 130]. Como se puede ver en la figura 8.2, este haz principalmente epitérmico tiene la particularidad de poseer componentes de neutrones rápidos y de radiación gamma muy bajas. Como se aprecia en la figura 8.3, posee un flujo máximo de neutrones térmicos de $2.5 \times 10^9 \text{ n/cm}^2\text{s}$ a 2 cm de profundidad. En la tabla 8.1 se detallan los

	FiR1	Haz B3	RFQ	
ϕ_{epi}	1.03×10^9	0.86×10^9	1.08×10^9	n/cm^2s
$\dot{D}_{fast}/\phi_{epi}$	1.4×10^{-13}	9.6×10^{-13}	9.6×10^{-13}	Gy/cm^2s
$\dot{D}_{\gamma}/\phi_{epi}$	0.5×10^{-13}	7.4×10^{-13}	7.4×10^{-13}	Gy/cm^2s
ϕ_{th}/ϕ_{epi}	0.06	0.1	0.01	n/cm^2s
J_{total}/ϕ_{total}	0.75	0.72	0.74	

Tabla 8.1: Parámetros recomendados en IAEA Tec-Doc 1223 del haz *FiR1*, *B3* y *RFQ* promediados en el puerto.

parámetros físicos del haz libre en aire recomendados en IAEA Tec-Doc 1223.

8.2.1.2. Haz B3 del reactor RA-6.

Debido al interés del grupo argentino en fomentar la apertura de ensayos clínicos de BNCT para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello, se está evaluando la posibilidad de modificar el filtro externo de la facilidad de BNCT del reactor RA-6. El objetivo de esta modificación es implementar un sistema de haz sintonizable capaz de alternar entre dos modos de operación. En uno de los modos se conservan las características espectrales mixtas actuales del *haz B2* mientras que el otro modo provee un haz principalmente epitérmico. Este nuevo modo de operación se denomina *haz B3*. Como se puede ver en la figura 8.3, el *haz B3* posee un flujo máximo de neutrones térmicos en fantoma de agua de $2.3 \times 10^9 n/cm^2s$ a $1.8 cm$ de profundidad. En la tabla 8.1 se detallan los parámetros físicos del haz libre en aire recomendados en IAEA Tec-Doc 1223.

8.2.1.3. Acelerador RFQ.

En el marco del proyecto italiano que promueve la instalación de una facilidad clínica de BNCT basada en el acelerador de protones *RFQ* diseñado por INFN, en Italia se desarrolló un conformador capaz de convertir protones en un haz de neutrones aptos para uso clínico. Dicho conformador consiste en un blanco de berilio sobre el que impactan protones acelerados de 5 MeV . Los neutrones resultantes de las colisiones son moderados por una serie de filtros hasta alcanzar el espectro energético que se muestra en la figura 8.2. La estructura del conformador fue optimizada a través de una extensa serie de estudios que comprendieron el análisis retrospectivo de tratamientos de tumores profundos y la evaluación de la dosis recibida por los órganos sanos periféricos [131]. En la figura 8.3 se puede observar que el *RFQ* posee un flujo máximo de neutrones térmicos en fantoma de agua de $2.5 \times 10^9\text{ n/cm}^2\text{s}$ a 2.3 cm de profundidad. En la tabla 8.1 también se detallan los parámetros físicos del haz libre en aire recomendados en IAEA Tec-Doc 1223.

8.2.2. Estudio sistemático en fantoma cilíndrico.

Emplear la optimización de la UTCP como herramienta de comparación de haces clínicos de BNCT requiere establecer un escenario clínico común para hacer el análisis. Como el objetivo general de este trabajo es evaluar el desempeño del *haz B2* en el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello, se diseñó un esquema de tratamiento estándar basado en las características de esta patología.

En las facilidades de BCNT, típicamente se suele utilizar fantomas cilíndricos de PMMA para estudios de dosimetría ya que tienen una geometría similar a la de la cabeza y el cuello humano [132, 133]. Por esta razón, se optó por un cilindro de 20 *cm* de diámetro y 24 *cm* de alto para realizar el análisis propuesto. El tumor se modeló como un volumen blanco macroscópico esférico (GTV) situado a 1 *cm* de profundidad desde la superficie del fantoma. El radio del GTV se varió desde 0.5 *cm* hasta 3.5 *cm* en pasos de 0.5 *cm* de modo que la profundidad máxima de las lesiones descriptas varían desde 2 *cm* hasta 8 *cm* desde la superficie. Para cada una de ellas se definió un margen de seguridad de 1 *cm* adicional (PTV).

Para simular las irradiaciones con las distintas fuentes se desarrolló un algoritmo que a partir de las dimensiones del fantoma es capaz de crear un conjunto de imágenes como si se trataran de un estudio tomográfico. Las imágenes generadas se introdujeron en el sistema de planificación de tratamientos Multicell [46] con el cual se creó el modelo voxelizado en lenguaje MCNP [45]. Las composiciones elementales del aire y del material tejido equivalente PMMA se obtuvieron del reporte ICRU 44 [134].

Con respecto a la posición del fantoma frente a los haces se optó por imitar los posicionamiento más comunes en la práctica clínica de BNCT para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello [96, 34, 97, 98, 99]. Como se puede ver en la figura 8.4, se planificaron dos situaciones distintas: un campo frontal (8.4.A) y dos campos perpendiculares convergentes (8.4.B). Ambas situaciones se estudiaron con el fantoma en contacto con el puerto ($d = 0$ *cm*)

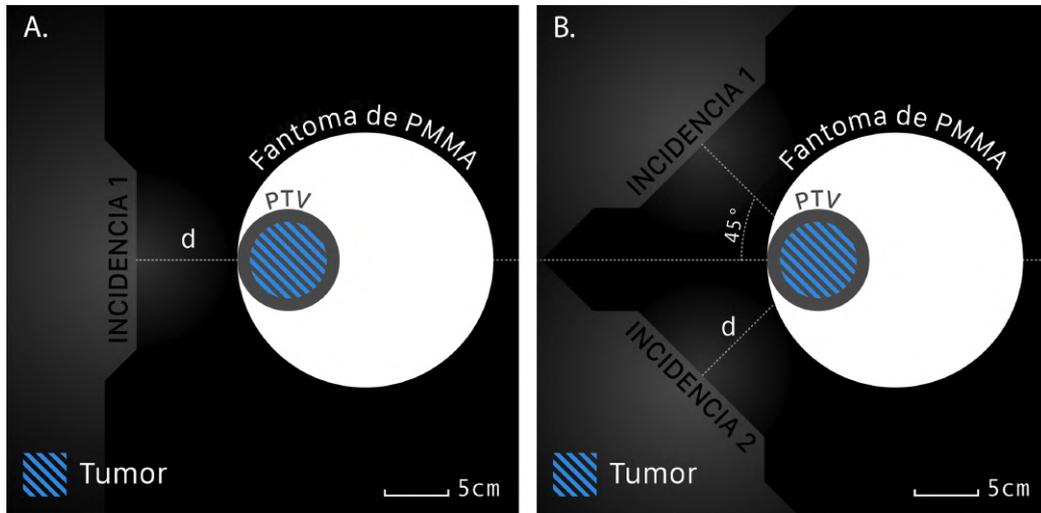


Figura 8.4: Vista sagital del fantoma cilíndrico de PMMA. Una incidencia (A.) y dos incidencias perpendiculares (B.) a una distancia d de la superficie del fantoma.

y con el fantoma a 7.5 cm de distancia ($d = 7.5\text{ cm}$).

A partir de los resultados obtenidos de las simulaciones de MCNP se calcularon las dosis iso-efectivas para el GTV, para el PTV y para el volumen correspondiente al resto del cilindro. Por simplicidad, este volumen ajeno al PTV y GTV fue considerado la mucosa en riesgo. En el análisis se asumió una concentración de boro en sangre de 15 ppm y relaciones constantes entre tumor/sangre y mucosa/sangre de 3.5:1 y 2:1, respectivamente [34].

Las figuras de mérito radiobiológicas se calcularon teniendo en cuenta la estrategia de irradiación empleada en los ensayos clínicos de Finlandia. En dicho protocolo de irradiación los pacientes recibieron dos aplicaciones de BNCT distanciadas entre 3 y 5 semanas. El efecto del tratamiento en el tumor se consideró aditivo para el cálculo de la TCP, mientras que en la membrana mucosa se asumió reparación completa luego de cada aplicación. Por último,

se calculó la UTCP en función del tiempo de irradiación para los cuatro haces de tratamiento estudiados en los escenarios de análisis descriptos.

8.2.3. Utilización de FOMs radiobiológicas en análisis retrospectivos de pacientes humanos.

El criterio de evaluación y comparación presentado en este capítulo también puede emplearse en contextos clínicos realistas. A modo de ejemplo se aplicó al estudio retrospectivo y prospectivo de dos de los pacientes de cáncer de cabeza y cuello analizados en el capítulo anterior. Se eligieron los pacientes HN01 y HN03 por tratarse de los casos de tumor más profundo y más superficial, respectivamente. En la tabla 8.2 se resumen las características generales de los pacientes elegidos.

Pacientes	Tumor (GTV) [cm^3]	Profundidad máxima [cm]	Respuesta Tumoral	Mucositis $G \geq 3$
HN01	14	4	Respuesta Completa	No
HN02	116	7.5	Enfermedad Estable	No

Tabla 8.2: Pacientes seleccionados con cáncer de cabeza y cuello tratados con BNCT en Finlandia [34].

En este análisis se consideró como referencia el tratamiento realizado con el haz *FiR1*. A partir del estudio de optimización de la UTCP se compararon los tratamientos originales con el desempeño clínico del haz *B2* y del *RFQ*. Las simulaciones de las irradiaciones se realizaron utilizando los modelos voxelizados de los pacientes construidos con el algoritmo Multicell y respetando las posiciones de los tratamientos originales.

Se calcularon las dosis iso-efectivas para el GTV, PTV y la membrana mucosa teniendo en cuenta la concentración de boro en sangre promedio a lo largo de la irradiación del paciente. A partir de la dosimetría obtenida de las simulaciones se calcularon las figuras de mérito radiobiológicas y se estudió el comportamiento de la UTCP en función del tiempo. Los tiempos de tratamiento óptimos resultantes del criterio de evaluación se compararon con los tiempos de irradiación reales. Por último, se compararon los desempeños clínicos de los haces estudiados a partir de los valores máximos de UTCP de cada uno de los casos.

8.3. Resultados y discusión.

8.3.1. Estudio sistemático en fantoma cilíndrico.

En la figura 8.5 se pueden observar las UTCP máximas en función del tamaño de los tumores para los cuatro escenarios estudiados. Adicionalmente en cada gráfico se agregó un eje superior que representa la profundidad máxima equivalente que alcanzan las lesiones.

Dadas las condiciones de tratamiento y el tamaño del tumor, el potencial terapéutico de un haz está asociado al valor máximo de la UTCP. Cuanto mayor sea dicho máximo, mayor será el potencial del haz para tratar satisfactoriamente el tumor con un nivel aceptable de complicaciones asociadas.

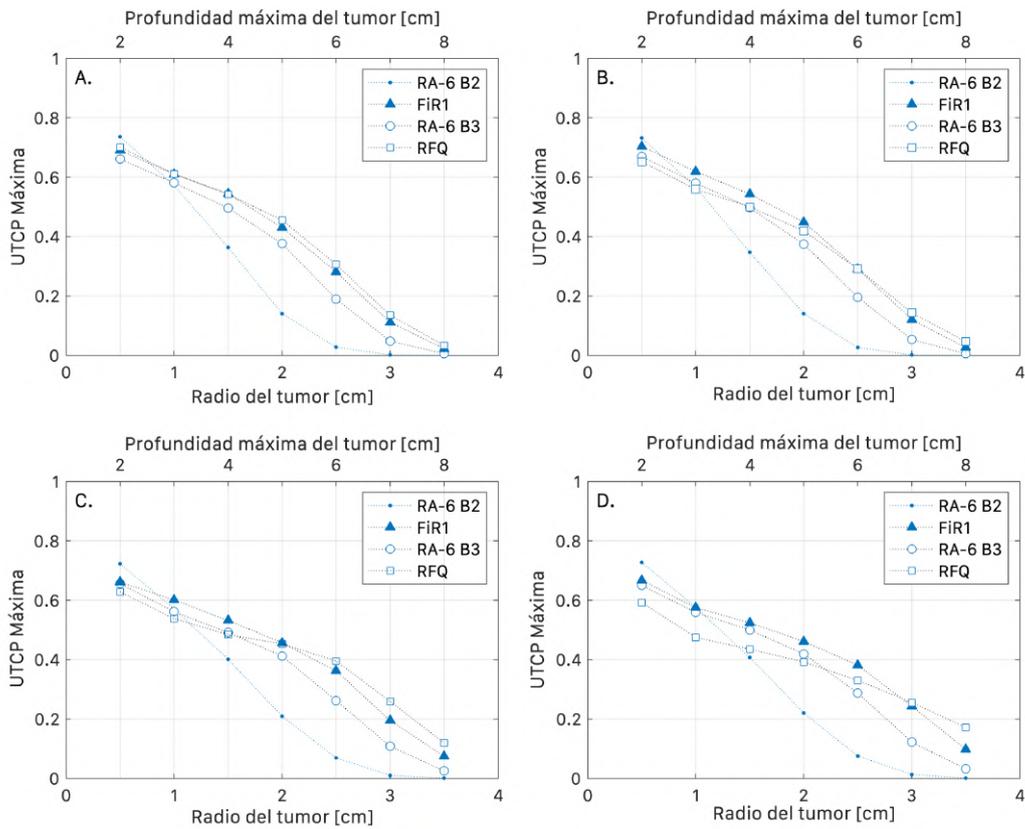


Figura 8.5: UTCP máxima en función del tamaño del tumor para cuatro escenarios de tratamiento en modelo simplificado de cáncer de cabeza y cuello. (A) haz frontal y fantoma al ras del puerto. (B) haz frontal y fantoma a 7.5 cm del puerto. (C) haces perpendiculares convergentes y fantoma al raz del puerto. (D) haces perpendiculares convergentes y fantoma a 7.5 cm del puerto.

Los resultados presentados también pueden interpretarse como la fracción de tumores que pueden ser controlados sin inducir efectos secundarios en función del tamaño de la lesión. Si se estableciera un umbral de aceptación de acuerdo a criterios médicos, por ejemplo $UTCP_{max} = 0.4$, se podría afirmar que tanto el *FiR1* como el *RFQ* son capaces de tratar tumores de hasta 2 cm de radio con una única incidencia frontal (Figura 8.5.A y 8.5.B). Aplicando el mismo umbral de aceptación al análisis del tratamiento con dos incidencia

perpendiculares convergentes se revela que el *haz B3* también es capaz de tratar tumores de hasta 2 *cm* de radio (Figura 8.5.C y 8.5.D).

El *haz B2*, si bien no se caracteriza por su capacidad de penetración, es el haz que mejor se desempeña en el tratamiento de lesiones superficiales. Para el escenario de dos incidencias perpendiculares convergentes cumple el criterio de aceptación propuesto para tumores de hasta 4 *cm* de profundidad máxima.

A partir del análisis de la UTCP máxima en función del tamaño tumoral también se puede juzgar la versatilidad de los haces. Dado un escenario clínico específico y un umbral de aceptación determinado, mientras mayor sea la profundidad máxima a la que el haz es capaz de superar el umbral de aceptación, mayor será su versatilidad para controlar tumores de distintos tamaños sin complicaciones adicionales.

Por ejemplo, en la figura 8.5 se puede observar que la profundidad máxima a la que los haces *FiR1* y *B3* alcanzan el nivel de aceptación para el escenario de una incidencia frontal, incrementa 1 *cm* si se considera el escenario de dos incidencias perpendiculares convergentes. La pendiente de la curva descrita por la UTCP máxima se puede interpretar como la capacidad de un haz de tratar distintos escenarios clínicos con la misma efectividad. Cuanto menor sea la pendiente mayor será el número de tumores tratados con el mismo nivel de efecto.

De todos los haces estudiados en los distintos escenarios clínicos, el *haz B2* presenta el valor más alto de UTCP máxima. No es casual que dicho

máximo se alcance en el tratamiento de lesiones pequeñas de hasta 2.5 *cm* de profundidad. Como se discutió anteriormente, a diferencia de los otros haces que poseen una característica espectral principalmente epitérmica, el *haz B2* es un haz mixto diseñado para el tratamiento de este tipo de lesiones superficiales. El método de análisis presentado demuestra que la introducción de una figura de mérito radiobiológica compleja como la UTCP permite comparar haces con características espectrales diferentes.

Analizando los resultados presentados para los escenarios en los cuales el fantoma está posicionado sobre el puerto de irradiación, se puede observar que el *FiR1* y el *RFQ* tienen un potencial terapéutico y una versatilidad comparables. Sin embargo, al separar el fantoma de los puertos de irradiación se evidencia un leve aumento de desempeño por parte del haz *RFQ* para el tratamiento de las lesiones más grandes y profundas. Este resultado no se podría haber anticipado únicamente a partir de los valores similares de los parámetros de direccionalidad J/ϕ de cada uno de los haces (ver Tabla 8.1).

Con respecto al *haz B3*, este estudio demuestra que las modificaciones propuestas para el *haz B2* tienen un potencial terapéutico comparable con el haz de referencia *FiR1* para lesiones que no superen los 4 – 5 *cm* de profundidad.

8.3.2. Utilización de FOMs radiobiológicas en análisis retrospectivos de pacientes humanos.

En la figura 8.6.A y 8.6.B se muestran las curvas de TCP, NTCP y UTCP en función del tiempo total de tratamiento para los pacientes HN01 y HN03 tratados en Finlandia con el *FiR1*. Como se puede observar, los tiempos de irradiación de los tratamientos auténticos son muy similares a aquellos que maximizan la UTCP para los dos casos estudiados. Durante la prescripción de dosis de las planificaciones originales, los tiempo de irradiación fueron determinados por el grupo médico finlandés en base a la experiencia previa adquirida en los ensayos clínicos de BNCT. La semejanza observada refuerza la idea de que el estudio de optimización de UTCP es una herramienta de prescripción con un gran potencial clínico.

Como se indica en la tabla 8.2, los pacientes HN01 y HN03 poseen tumores que alcanzan profundidades máximas de 4 y 7.5 cm, respectivamente. Las UTCP máximas obtenidas para los tratamientos de estos pacientes son consistentes con aquellas que se obtuvieron en el estudio simplificado de fantoma cilíndrico a 7.5 cm de dos incidencias perpendiculares convergentes. Este hecho muestra que el estudio sistemático utilizando un fantoma cilíndrico es una estrategia confiable para analizar el potencial terapéutico y la versatilidad de un haz de BNCT. Nótese que los cálculos de la UTCP para los pacientes se llevaron a cabo considerando el mismo GTV y el mismo punto limitante de la membrana mucosa que determinaron los médicos durante los

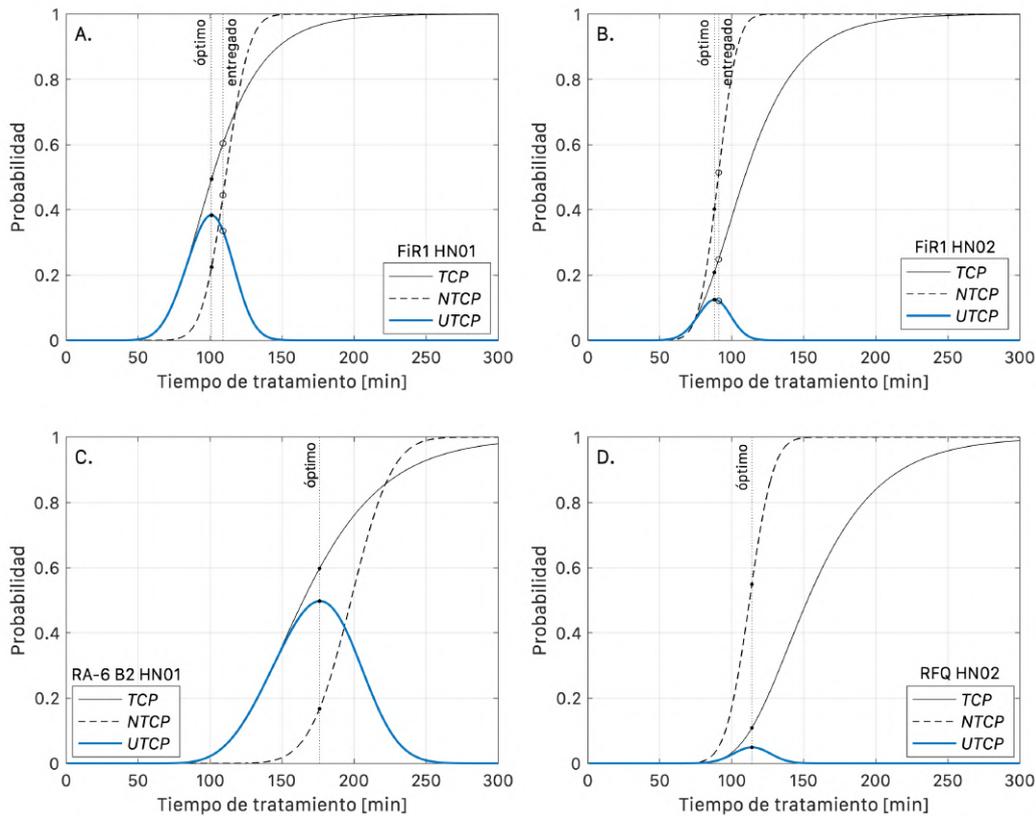


Figura 8.6: TCP, NTCP y UTCP en función del tiempo total de tratamiento de los pacientes HN01 y HN03. (A) y (B): Tratamientos originales con el haz *FiR1*. (C) y (D) tratamientos simulados con los haces *B2* y *RFQ*. Las líneas verticales indican el tiempo de tratamiento original y el tiempo de tratamiento óptimo que maximiza la UTCP.

tratamientos originales.

En la figura 8.6.C y 8.6.D se muestran las curvas de TCP, NTCP y UTCP resultantes de las simulaciones de los pacientes HN01 y HN03 utilizando los haces *B2* y *RFQ*, respectivamente. La comparación de los valores máximos de UTCP con los que se obtuvieron en los tratamientos originales con el *FiR1* revela que, para los casos estudiados, el potencial terapéutico de los haces *B2* y *RFQ* es comparable con el del haz finlandés. Nuevamente, las UTCP

máximas obtenidas para los tratamientos de estos pacientes son consistentes con aquellas que se obtuvieron en el estudio sistemático simplificado para tumores de tamaño y profundidad comparable.

Como se discutió anteriormente, la mucositis oral es una de las toxicidades limitantes más comunes en distintos tipos de terapias radiantes empleadas para tratar lesiones de la región de la cabeza y el cuello. Según la bibliografía consultada, un grado de mucositis igual o mayor a tres es motivo suficiente para interrumpir un tratamiento [125, 126, 127]. El criterio empleado en el protocolo finlandés para evitar la manifestación de este efecto fue limitar la dosis absorbida por la membrana mucosa a un máximo de 6 Gy por aplicación de BNCT.

Los haces analizados en este estudio tienen composiciones espectrales muy distintas (figura 8.2). En consecuencia, se espera que la contribución relativa de cada componente de dosis de BNCT al punto máximo de dosis absorbida sea diferente para cada uno de los haces. Como la severidad del daño biológico está estrictamente relacionada con el tipo de radiación, no se espera que dos tratamientos realizados con haces de distinta composición espectral tengan el mismo nivel de efecto biológico para un mismo valor de dosis absorbida. En estos términos, sería incorrecto emplear el criterio de prescripción de dosis del protocolo original para limitar el tiempo de irradiación de los estudios prospectivos con los haces *B2* y *RFQ*.

En el capítulo anterior se demostró que un criterio más verosímil para igualar las condiciones de prescripción en una comparación de tratamientos

consiste en limitar el tiempo de irradiación para alcanzar el mismo nivel de NTCP del tratamiento original. Por ejemplo, en la figura 8.6.A se muestra que para el tratamiento original con el haz *FiR1*, el paciente HN01 tiene un probabilidad de control tumoral de 0.6 y una probabilidad de mucositis $G \geq 3$ de 0.46.

Si el tiempo de irradiación del tratamiento simulado con el haz *B2* se limita para alcanzar una NTCP de 0.46 (8.6.B) la probabilidad de control tumoral es de 0.67. Es decir, un 11 % mayor que la del tratamiento original. Dado que intensidad del haz *B2* es menor que la del *FiR1*, el tiempo de irradiación total será mayor. Sin embargo, puede considerarse un tiempo aceptable para un tratamiento de solo dos aplicaciones. Como se concluyó en el capítulo anterior, la introducción de figuras de mérito para el análisis y comparación de haces de tratamiento revela ventanas de oportunidad terapéuticas que las figuras convencionales no podrían revelar.

Al tratarse de un tumor de gran tamaño ubicado a una profundidad considerable, en el caso HN03, la probabilidad de controlar la lesión sin ocasionar mucositis de relevancia clínica es muy baja tanto para el tratamiento original (8.6.C) como para la simulación del tratamiento utilizando el haz del *RFQ* (8.6.D). Incluso se puede observar que la probabilidad de control tumoral del tratamiento original es consistente con la respuesta clínica observada (tabla 8.2).

En estos casos de alta complejidad, contar con herramientas robustas de comparación y análisis como lo son las figuras de mérito radiobiológicas,

permite evaluar distintas estrategias de tratamiento. Por ejemplo, se podrían explorar nuevas incidencias de haces o incluso la utilización de compuestos borados que mejoren la captación de boro del tumor. Además, dada la generalidad de los modelos de probabilidad utilizados, las aplicaciones de las herramientas presentadas en este capítulo puede extenderse fácilmente a otro tipo de patologías.

8.4. Conclusiones.

En este capítulo se presentó el desarrollo de una estrategia de análisis y comparación de haces clínicos de BNCT que explota eficientemente las ventajas de las figuras de mérito radiobiológicas presentadas en el capítulo anterior. Esta estrategia se basa principalmente en el concepto de probabilidad de control tumoral sin complicaciones para BNCT en cáncer de cabeza y cuello.

La optimización de la UTCP en función del tiempo de tratamiento permite determinar la probabilidad máxima de controlar un tumor sin complicar la integridad de los tejidos circundantes. Dicha UTCP máxima demostró ser una figura de mérito robusta y sensible para evaluar el potencial terapéutico y la versatilidad de un haz de tratamiento de forma justa y realista. También se demostró que este criterio de análisis revela ventanas de oportunidades clínicas y ventajas terapéuticas que los parámetros físicos que se utilizaron históricamente para caracterizar los haces no pudieron revelar.

La aplicación de la UTCP en el estudio sistemático basado en un modelo simplificado de cáncer de cabeza y cuello permitió implementar el esquema de análisis propuesto en un escenario universal, representativo y repetible. De este modo se pudo comparar y evaluar el potencial terapéutico y la versatilidad de cuatro haces clínicos de distintas características espectrales.

Por último, se aplicó el esquema de análisis propuesto al estudio retrospectivo de tratamientos llevados a cabo en facilidades de BNCT existentes y al estudio prospectivo de factibilidad de prototipos de haces clínicos realistas.

En la actualidad, tanto Japón como Taiwán cuentan con protocolos clínicos de tratamiento de cáncer de cabeza y cuello con BNCT. Además, próximamente se inaugurará en Finlandia un nuevo protocolo de BNCT basado en aceleradores. Por su parte, el proyecto argentino continúa desarrollando la infraestructura científica necesaria para extender las posibilidades de tratamiento a nuevas patologías y el cáncer de cabeza y cuello es un potencial candidato. En este contexto, las herramientas presentadas en este trabajo pueden resultar de gran utilidad para asistir la toma de decisiones clínicas durante la planificación de nuevos tratamientos.

9

Conclusiones

En los últimos años BNCT ha demostrado ser una alternativa viable para el tratamiento de determinados cánceres sin otra opción terapéutica. A lo largo de este trabajo se hicieron contribuciones originales en investigación y desarrollo de BNCT para el tratamiento de cánceres de hueso (osteosarcoma) y de cabeza y cuello (carcinoma de células escamosas).

El osteosarcoma es una cáncer agresivo e infiltrante que afecta tanto a los huesos como al tejido que los rodea. Como ya se ha demostrado clínicamente, la selectividad característica de BNCT permite tratar este tipo de tumores reduciendo el impacto del tratamiento sobre los tejidos sanos [51]. Cuantificar el boro infundido en los tejidos involucrados es fundamental para el estudio de la biodistribución y la caracterización de la dinámica de los compuestos borados. Dadas las características del tejido óseo, algunas de las técnicas de detección y cuantificación de boro desarrolladas originalmente para tejidos blandos requieren ser revisadas y adaptadas. En este trabajo se aborda por primera vez la extensión de las técnicas de autorradiografía neutrónica y de

espectrometría alfa con el objetivo de ampliar su aplicación a la medición de boro en tejidos duros.

La extensión propuesta para la técnica de alfaespectrometría consistió en la utilización de muestras de hueso delgadas obtenidas por desgaste mecánico en reemplazo del crióstato convencional. Este tipo de muestras, a pesar de no ser tan delgadas ($\sim 100 \mu m$) como las que típicamente se utilizaban para emplear la técnica en tejidos blandos ($\sim 30 \mu m$), resultaron ser compatibles con el dispositivo experimental existente y garantizaron la repetibilidad de las mediciones.

Las simulaciones complementarias de MCNP permitieron entender la influencia de la estructura y la composición de los huesos en el transporte de partículas alfa. Estas simulaciones también revelaron que un conocimiento preciso del poder de frenado de estas partículas en el hueso mejora la precisión de la técnica de alfaespectrometría.

El poder de frenado se determinó a partir de un experimento de caracterización elemental por técnica de PIXE realizado en el acelerador experimental del departamento de colisiones del Centro Atómico Bariloche. Los resultados obtenidos se usaron como información de entrada en un programa validado para el cálculo de poder de frenado llamado SRIM.

La técnica extendida de alfaespectrometría se puso a prueba para determinar la concentración de boro de muestras de fémur de oveja provenientes de animales infundidos en experimentos de biodistribución de compuestos borados. La irradiación de las muestras se llevó a cabo en la

facilidad de irradiación del reactor TRIGA Mark II de la Universidad de Pavia, Italia. Las concentraciones de boro medidas con la técnica desarrollada demostraron ser consistentes con los resultados obtenidos por técnicas de medición de referencia. Tanto el protocolo de extensión como la validación experimental fueron publicadas con el título *Charged particle spectrometry to measure ^{10}B concentration in bone* en la revista científica *Radiation and Environmental Biophysics* [13].

En el caso de la técnica de autorradiografía neutrónica, además de reemplazar las técnicas de corte con crióstato por la generación de muestras delgadas a partir de desgaste mecánico, fue necesario construir una curva de calibración. Esta curva es la herramienta que permite relacionar el número de trazas nucleares detectadas en el detector polimérico con la concentración de boro. Para su construcción se prepararon muestras con concentraciones conocidas de ácido bórico embebidas en polvo de hueso.

Las muestras patrón construidas se irradiaron en el reactor RA-3 del Centro Atómico Ezeiza y las trazas generadas se ensancharon químicamente para que pudiesen ser contadas con un microscópico óptico digital. Para mejorar la eficacia del conteo se programó un código que simula la producción espacial de trazas y se determinaron factores multiplicativos que corrigen la deficiencia de conteo consecuente de la superposición espacial. Los factores de corrección se aplicaron al conteo de las muestras de polvo de hueso.

La curva de calibración construida se empleó para cuantificar la concentración de boro de muestras de fémur de oveja provenientes de

experimentos de biodistribución. Estas muestras se midieron pulverizadas y en forma de cortes delgados desgastados mecánicamente. En ambos casos se utilizó la curva de calibración previamente construida. Los resultados obtenidos se compararon con mediciones de ICP-OES y se comprobó que la curva de calibración es válida tanto para muestras en polvo como para cortes delgados.

La extensión de la técnica de autorradiografía neutrónica fue publicada en la revista *Applied Radiation and Isotopes* con el título de *Extending neutron autoradiography technique for boron concentration measurements in hard tissues* [12].

Las técnicas desarrolladas en la primera parte de este trabajo son herramientas indispensables para estudiar la biodistribución de los compuestos borados en los tejidos duros. Conocer con precisión las relaciones de captación de boro entre la sangre y los tejidos involucrados contribuye a una mejor determinación de la dosis entregada al paciente durante un tratamiento de BNCT.

En el marco de la colaboración de CNEA e INFN se han realizado estudios de dosimetría computacional que demuestran que el haz del nuevo acelerador RFQ italiano tiene las características adecuadas para tratar osteosarcoma [10]. En un futuro próximo, cuando se ponga en práctica la aplicación clínica de BNCT para el tratamiento de esta patología, las técnicas de medición presentadas contribuirán a diseñar planes de tratamiento eficientes que mejoren la salud y garanticen la seguridad del paciente.

En la segunda parte de este trabajo se redefinió el concepto de desempeño terapéutico de un haz de BNCT como la combinación su potencial terapéutico y su versatilidad. A partir de este nuevo enfoque se realizó una evaluación intensiva de la facilidad del reactor argentino RA-6 para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello. En la primera instancia de la evaluación se llevó a cabo una caracterización computacional de la configuración actual del *haz B2*. A partir de esta caracterización se evidenciaron las ventajas espectrales y morfológicas que posee el haz para el tratamiento de lesiones superficiales. Además, se calculó una serie de figuras de mérito para caracterizar los parámetros físicos del haz libre en aire y se compararon con valores de referencia propuestos en la bibliografía [108].

Las figuras de mérito antes mencionadas fueron concebidas para evaluar haces empleados para el tratamiento de lesiones profundas. En su construcción, es evidente que se valora la intensidad de la componente epitérmica del haz mientras que las componentes rápidas y térmicas son desestimadas. Dado que el *haz B2* está diseñado para el tratamiento de lesiones superficiales, posee una composición espectral mixta de neutrones térmicos y epitérmicos. Como se demostró en el capítulo 6, para hacer una evaluación justa utilizando la filosofía de estos parámetros fue necesario modificarlos para que valoren la componente térmica y la epitérmica por igual.

La modificación propuesta para estos parámetros permitió evaluar las características físicas del *haz B2* de forma equitativa. Además, a partir del estudio computacional del comportamiento del haz en el fantoma cúbico de

agua se observó que una planificación de incidencias adecuada podría abrir una ventana de oportunidad clínica para tratar blancos más profundos como el cáncer de cabeza y cuello. Este hecho demostró que evaluar el potencial terapéutico de un haz de tratamiento requiere incorporar un enfoque clínico que ponga en perspectiva el efecto biológico del tratamiento sobre una patología específica.

En el marco del protocolo preclínico veterinario de la CNEA se realizaron diferentes aportes que contribuyeron de forma directa a la realización de los tratamientos de BNCT en perros en situación terminal con cáncer de células escamosas de cabeza y cuello. Los pacientes veterinarios sin ninguna otra opción terapéutica fueron tratados en la facilidad del reactor RA-6. Para validar la factibilidad de estos ensayos preclínicos en primer lugar se realizaron simulaciones computacionales a partir de imágenes tomográficas de los pacientes. Los estudios de dosimetría computacional corroboraron que a partir de dos tratamientos de BNCT para cada paciente, administrados en intervalos de 3 y 4 semanas, era posible entregar dosis terapéuticas a los tumores sin comprometer órganos en riesgo.

El ensayo del posicionamiento de los pacientes previo a la terapia requirió del desarrollo de dos técnicas innovadoras para evitar someter a los animales a extensas sesiones de anestesia. Se diseñaron protocolos de ensayo basados en la impresión de un modelo físico tridimensional de la cabeza del animal y en la simulación de un entorno virtual realista del paciente y de la sala de irradiación. Ambos sistemas permitieron practicar los posicionamientos de los pacientes con mayor precisión y libertad de acción que la que se dispone

cuando se involucra directamente al paciente real.

Luego de las irradiaciones llevadas a cabo en el reactor RA-6 se observaron respuestas tumorales positivas que mejoraron sustancialmente el estado clínico general de los pacientes. Solo se observaron reacciones agudas leves en los tejidos normales y no se observó ningún tipo de toxicidad a mediano y largo plazo. Esta experiencia clínica demostró que para determinados casos y con ciertas limitaciones, el *haz B2* es capaz de proporcionar tratamientos con el potencial terapéutico suficiente para extender la sobrevida de los pacientes y mejorar significativamente su calidad de vida. Además, refuerza la hipótesis de que para evaluar el desempeño de una facilidad de tratamiento de BNCT no es suficiente con la caracterización de los parámetros físicos del haz.

En respuesta a la hipótesis planteada se presentaron dos figuras de mérito con perspectiva radiobiológica capaces de predecir la probabilidad de control tumoral y la probabilidad de complicación de tejido sano para BNCT de cáncer de cabeza y cuello. En el caso particular del modelo de control tumoral fue modificado para que tenga en cuenta la distribución espacial de dosis tumoral completa. Esta mejora es de gran relevancia ya que, debido a las características físicas de la interacción de los neutrones con el cuerpo humano, la dosimetría de los tumores en BNCT no suele ser homogénea y no se puede representar con un único valor de referencia.

Las figuras de mérito radiobiológicas propuestas se utilizaron para analizar retrospectivamente tres casos de pacientes tratados originalmente en Finlandia. Estos casos fueron reconstruidos computacionalmente y se

reemplazó la fuente de neutrones del reactor *FiR1* por el *haz B2* para comparar su desempeño con el del tratamiento original. Para que haces con características espectrales distintas se pudiesen comparar de forma justa, los tiempos de irradiación de los tratamientos se prescribieron igualando los efectos biológicos sobre los órganos de riesgo. Bajo este criterio, el *haz B2* demostró que a pesar de su espectro mixto favorable para el tratamiento de lesiones superficiales, en determinados casos es capaz de brindar un tratamiento comparable con el de un haz de referencia internacional con el que históricamente se obtuvieron resultados clínicos ejemplares.

A partir de las figuras de mérito desarrolladas se construyó por primera vez para BNCT un modelo de probabilidad de control tumoral sin complicaciones. Este modelo permite determinar el tiempo de irradiación necesario para maximizar el control tumoral minimizando la probabilidad de dañar órganos vecinos. Conceptualmente, dadas las características espectrales de un haz y una planificación de incidencias determinada, el modelo de UTCP es capaz de determinar el mejor escenario de tratamiento posible en términos del efecto biológico de la terapia.

El modelo propuesto se utilizó para comparar el desempeño de dos haces existentes y de dos prototipos en desarrollo, todos ellos con características espectrales diferentes. En este estudio se construyeron las curvas de la evolución de la probabilidad de control sin complicaciones en función del tiempo de tratamiento para escenarios clínicos específicos.

La forma de campana de Gauss característica de estas curvas está

directamente relacionada con el potencial terapéutico y la versatilidad del haz estudiado. El punto máximo corresponde al tiempo de tratamiento que maximiza la probabilidad de control tumoral minimizando la probabilidad de complicación de tejido normal. Este tiempo óptimo representa el mejor tratamiento posible en términos del efecto biológico. Al mismo tiempo, el ancho de la campana indica con que versatilidad se puede apartar un tratamiento del tiempo óptimo sin comprometer el efecto terapéutico y la seguridad del paciente.

En primer lugar, la comparación de los haces estudiados se llevó a cabo en un esquema de tratamiento simplificado utilizando un modelo de fantoma cilíndrico. La modalidad de comparación demostró ser una herramienta robusta y sensible capaz de evaluar el potencial terapéutico y la versatilidad de un haz de tratamiento de forma justa y realista sin discriminar por su calidad espectral.

Por último, se comparó el desempeño de los haces estudiados empleando el modelo propuesto para evaluar los resultados de simulaciones computacionales retrospectivas de tratamientos clínicos en pacientes reales tratados en Finlandia. La evaluación del *haz FiR1* demostró que el tiempo de tratamiento óptimo predicho por el modelo es consistente con los tiempos de irradiación determinados bajo el criterio médico con el que fueron tratados los pacientes de forma exitosa.

Estos resultados fueron publicados en la revista *Physica Medica* con el título de *The essential role of radiobiological figures of merit for the*

assessment and comparison of beam performances in boron neutron capture therapy.

La utilidad del modelo de probabilidad de control tumoral sin complicaciones no se limita únicamente a la comparación de haces de tratamiento de características espectrales distintas. Debido a sus características también se ha implementado exitosamente para evaluar el efecto del movimiento del paciente a la largo de un tratamiento y para asistir la toma decisiones en el diseño del filtro conformador del haz italiano RFQ [135] [*Postuma et al., in preparation*].

En los últimos años, gracias al auge en la industria de aceleradores, BNCT se vuelve a posicionar como una opción viable para el tratamiento de cánceres sin otra alternativa terapéutica. Tanto el cáncer de cabeza y cuello como el osteosarcoma son claros ejemplos de patologías donde la selectividad de tratamientos como BNCT representan un beneficio diferencial que permite mejorar la calidad de vida del paciente.

Los desarrollos originales expuestos en este trabajo contribuyen a la consolidación clínica de esta terapia. Tanto las técnicas de medición de compuestos borados como las herramientas de evaluación y comparación de haces se presentan como soluciones innovadoras a problemas de la agenda científica actual y son esenciales para garantizar el éxito clínico y la seguridad del paciente en tratamientos de BNCT.

Bibliografía

- [1] Hiroshi Hatanaka and Yoshinobu Nakagawa. Clinical results of long-surviving brain tumor patients who underwent boron neutron capture therapy. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 28(5):1061–1066, 1994.
- [2] Yoshinobu Nakagawa and Hiroshi Hatanaka. Boron neutron capture therapy: clinical brain tumor studies. *Journal of neuro-oncology*, 33(1-2):105–115, 1997.
- [3] H Fukuda, J Hiratsuka, T Kobayashi, Y Sakurai, K Yoshino, H Karashima, K Turu, K Araki, Y Mishima, and M Ichihashi. Boron neutron capture therapy (bnct) for malignant melanoma with special reference to absorbed doses to the normal skin and tumor. *Australasian Physics & Engineering Sciences in Medicine*, 26(3):97, 2003.
- [4] SJ Liberman, A Dagrosa, RA Jimenez Rebagliati, MR Bonomi, BM Roth, L Turjanski, SI Castiglia, SJ Gonzalez, PR Menendez, R Cabrini, et al. Biodistribution studies of boronophenylalanine–fructose in melanoma and brain tumor patients in argentina. *Applied radiation and isotopes*, 61(5):1095–1100, 2004.
- [5] S Bortolussi, JM Pinto, SI Thorp, RO Farias, M Sztejnberg Soto, M Sztejnberg, ECC Pozzi, SJ Gonzalez, MA Gadan, AN Bellino, et al.

- Simulation of the neutron flux in the irradiation facility at ra-3 reactor. *Applied Radiation and Isotopes*, 69(12):1924–1927, 2011.
- [6] Rubén O Farías, Silva Bortolussi, Pablo R Menéndez, and Sara J González. Exploring boron neutron capture therapy for non-small cell lung cancer. *Physica Medica*, 30(8):888–897, 2014.
- [7] Agustina Portu, Ian Postuma, Mario Alberto Gadan, Gisela Saint Martin, María Silvina Olivera, Saverio Altieri, Nicoletta Protti, and Silva Bortolussi. Inter-comparison of boron concentration measurements at infn-university of pavia (italy) and cnea (argentina). *Applied Radiation and Isotopes*, 105:35–39, 2015.
- [8] Rubén Oscar Farías, Marcela Alejandra Garabalino, Sergio Ferraris, Juan Santa María, O Rovati, Fernando Lange, Verónica Andrea Trivillin, Andrea Monti Hughes, Emiliano César Cayetano Pozzi, Silvia Inés Thorp, et al. Toward a clinical application of ex situ boron neutron capture therapy for lung tumors at the ra-3 reactor in argentina. *Medical physics*, 42(7):4161–4173, 2015.
- [9] L Provenzano, LM Rodríguez, D Fregenal, G Bernardi, C Olivares, S Altieri, S Bortolussi, and SJ González. Measuring the stopping power of α particles in compact bone for bnct. In *Journal of Physics: Conference Series*, volume 583, page 012047, 2015.
- [10] Silva Bortolussi, Ian Postuma, Nicoletta Protti, Lucas Provenzano, Cinzia Ferrari, Laura Cansolino, Paolo Dionigi, Olimpio Galasso, Giorgio Gasparini, Saverio Altieri, et al. Understanding the potentiality

- of accelerator based-boron neutron capture therapy for osteosarcoma: dosimetry assessment based on the reported clinical experience. *Radiation Oncology*, 12(1):130, 2017.
- [11] SJ González, Emiliano César Cayetano Pozzi, A Monti Hughes, Lucas Provenzano, H Koivunoro, Daniel Germán Carando, Silvia Inés Thorp, MR Casal, Silva Bortolussi, Verónica Andrea Trivillin, et al. Photon iso-effective dose for cancer treatment with mixed field radiation based on dose–response assessment from human and an animal model: clinical application to boron neutron capture therapy for head and neck cancer. *Physics in Medicine & Biology*, 62(20):7938, 2017.
- [12] Lucas Provenzano, María Silvina Olivera, Gisela Saint Martin, Luis Miguel Rodríguez, Daniel Fregenal, Silvia I Thorp, Emiliano CC Pozzi, Paula Curotto, Ian Postuma, Saverio Altieri, et al. Extending neutron autoradiography technique for boron concentration measurements in hard tissues. *Applied Radiation and Isotopes*, 137:62–67, 2018.
- [13] Lucas Provenzano, Silva Bortolussi, Sara J González, Ian Postuma, Nicoletta Protti, Agustina Portu, Maria Silvina Olivera, Luis Miguel Rodriguez, Daniel Fregenal, and Saverio Altieri. Charged particle spectrometry to measure ^{10}B concentration in bone. *Radiation and environmental biophysics*, 58(2):237–245, 2019.
- [14] Verónica Andrea Trivillin, Ayelén Serrano, Marcela A Garabalino, Lucas Luis Colombo, Emiliano César Pozzi, Andrea Monti Hughes,

- Paula M Curotto, Silvia Inés Thorp, Ruben O Farías, Sara J González, et al. Translational boron neutron capture therapy (bnct) studies for the treatment of tumors in lung. *International journal of radiation biology*, 95(5):646–654, 2019.
- [15] HR Blaumann, SJ González, J Longhino, GA Santa Cruz, OA Calzetta Larrieu, MR Bonomi, and BMC Roth. Boron neutron capture therapy of skin melanomas at the ra-6 reactor: A procedural approach to beam set up and performance evaluation for upcoming clinical trials. *Medical physics*, 31(1):70–80, 2004.
- [16] PR Menéndez, BMC Roth, MD Pereira, MR Casal, SJ González, DB Feld, GA Santa Cruz, J Kessler, J Longhino, H Blaumann, et al. Bnct for skin melanoma in extremities: updated argentine clinical results. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S50–S53, 2009.
- [17] SJ González, M Casal, MD Pereira, GA Santa Cruz, DG Carando, H Blaumann, M Bonomi, O Calzetta Larrieu, D Feld, C Fernández, et al. Tumor control and normal tissue complications in bnct treatment of nodular melanoma: A search for predictive quantities. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S153–S156, 2009.
- [18] SJ Gonzalez, Gustavo A Santa Cruz, and CS Yam. Nctplan. the new pc version of macnctplan improvements and validation of the treatment planning system. 2003.
- [19] Sara J González, Daniel G Carando, Gustavo A Santa Cruz, and Robert G Zamenhof. Voxel model in bnct treatment planning:

- performance analysis and improvements. *Physics in Medicine & Biology*, 50(3):441, 2005.
- [20] SJ González, GA Santa Cruz, WS Kiger III, and RG Zamenhof. A new computational tool for constructing dose-volume histograms using combinatorial techniques. In *Proceedings of the Tenth International Congress on Neutron Capture Therapy*. Monduzzi Editore, Bologna, pages 557–561, 2002.
- [21] Sebastián Gossio, Daniel G Carando, and Sara J González. A computational dosimetry tool for the study of tumor doses and skin toxicities in bnct. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S145–S148, 2009.
- [22] LW Wang, SJ Wang, PY Chu, CY Ho, SH Jiang, YW Hsueh Liu, YH Liu, HM Liu, JJ Peir, FI Chou, et al. Bnct for locally recurrent head and neck cancer: preliminary clinical experience from a phase i/ii trial at tsing hua open-pool reactor. *Applied Radiation and Isotopes*, 69(12):1803–1806, 2011.
- [23] Minoru Suzuki, Kazuo Endo, Hiroaki Satoh, Yoshinori Sakurai, Hiroaki Kumada, Hiroyuki Kimura, Shinichiro Masunaga, Yuko Kinashi, Kenji Nagata, Akira Maruhashi, et al. A novel concept of treatment of diffuse or multiple pleural tumors by boron neutron capture therapy (bnct). *Radiotherapy and Oncology*, 88(2):192–195, 2008.
- [24] A Zonta, T Pinelli, U Prati, L Roveda, C Ferrari, AM Clerici, C Zonta, G Mazzini, P Dionigi, S Altieri, et al. Extra-corporeal liver bnct for

- the treatment of diffuse metastases: what was learned and what is still to be learned. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S67–S75, 2009.
- [25] J. Cardoso, S. Nieves, M. Pereira, A. Schwint, V. Trivillin, E. Pozzi, E. Heber, A. Monti Hughes, P. Sanchez, E. Bumashny, M. Itoiz, and S. Liberman. Boron biodistribution study in colorectal liver metastases patients in argentina. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7, Supplement):S76 – S79, 2009.
- [26] Erica L Kreimann, Michiko Miura, María E Itoiz, Elisa Heber, Ricardo N Garavaglia, Daniel Batistoni, Raúl Jiménez Rebagliati, María J Roberti, Peggy L Micca, Jeffrey A Coderre, et al. Biodistribution of a carborane-containing porphyrin as a targeting agent for boron neutron capture therapy of oral cancer in the hamster cheek pouch. *Archives of oral biology*, 48(3):223–232, 2003.
- [27] Marcela A Garabalino, Andrea Monti Hughes, Ana J Molinari, Elisa M Heber, Emiliano CC Pozzi, Jorge E Cardoso, Lucas L Colombo, Susana Nieves, David W Nigg, Romina F Aromando, et al. Boron neutron capture therapy (bnct) for the treatment of liver metastases: biodistribution studies of boron compounds in an experimental model. *Radiation and environmental biophysics*, 50(1):199–207, 2011.
- [28] Marcela A Garabalino, Nahuel Olaiz, Agustina Portu, Gisela Saint Martin, Silvia I Thorp, Emiliano CC Pozzi, Paula Curotto, María E Itoiz, Andrea Monti Hughes, Lucas L Colombo, et al. Electroporation optimizes the uptake of boron-10 by tumor for

- boron neutron capture therapy (bnct) mediated by gb-10: a boron biodistribution study in the hamster cheek pouch oral cancer model. *Radiation and environmental biophysics*, 58(3):455–467, 2019.
- [29] S Bortolussi, N Protti, M Ferrari, I Postuma, S Fatemi, M Prata, F Ballarini, MP Carante, R Farias, SJ González, et al. Neutron flux and gamma dose measurement in the bnct irradiation facility at the triga reactor of the university of pavia. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 414:113–120, 2018.
- [30] Lucas Provenzano, Rubén O Farías, Juan M Longhino, Esteban F Boggio, María S Herrera, Natanael Moijsecsiuck, Carlos Fernández, Gustavo A Santa Cruz, and Sara J González. A prospective study to assess the performance of the improved boron neutron capture therapy facility in argentina. *Applied Radiation and Isotopes*, 88:171–176, 2014.
- [31] L Provenzano, H Koivunoro, I Postuma, JM Longhino, EF Boggio, RO Farías, S Bortolussi, and SJ González. The essential role of radiobiological figures of merit for the assessment and comparison of beam performances in boron neutron capture therapy. *Physica Medica*, 67:9–19, 2019.
- [32] MA Gadan, S Bortolussi, I Postuma, F Ballarini, P Bruschi, N Protti, D Santoro, Sabrina Stella, L Cansolino, A Clerici, et al. Set-up and calibration of a method to measure ^{10}B concentration in biological samples by neutron autoradiography. *Nuclear Instruments and Methods*

- in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 274:51–56, 2012.
- [33] Ian Postuma, Silva Bortolussi, Nicoletta Protti, Francesca Ballarini, Piero Bruschi, Laura Ciani, Sandra Ristori, Luigi Panza, Cinzia Ferrari, Laura Cansolino, et al. An improved neutron autoradiography set-up for ^{10}B concentration measurements in biological samples. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 21(2):123–128, 2016.
- [34] Leena Kankaanranta, Tiina Seppälä, Hanna Koivunoro, Kauko Saarilahti, Timo Atula, Juhani Collan, Eero Salli, Mika Kortenesniemi, Jouni Uusi-Simola, Petteri Välimäki, et al. Boron neutron capture therapy in the treatment of locally recurred head-and-neck cancer: final analysis of a phase i/ii trial. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 82(1):e67–e75, 2012.
- [35] Stewart BW Wild CP, Weiderpass E. *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. World Health Organization, 2020.
- [36] William M Mendenhall, Anthony A Mancuso, Robert J Amdur, Scott P Stringer, Douglas B Villaret, and Nicholas J Cassisi. Squamous cell carcinoma metastatic to the neck from an unknown head and neck primary site. *American journal of otolaryngology*, 22(4):261–267, 2001.
- [37] Sara Gandini, Edoardo Botteri, Simona Iodice, Mathieu Boniol, Albert B Lowenfels, Patrick Maisonneuve, and Peter Boyle. Tobacco smoking and cancer: A meta-analysis. *International journal of cancer*, 122(1):155–164, 2008.

- [38] William J Blot, Joseph K McLaughlin, Deborah M Winn, Donald F Austin, Raymond S Greenberg, Susan Preston-Martin, Leslie Bernstein, Janet B Schoenberg, Annette Stemhagen, and Joseph F Fraumeni. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer research*, 48(11):3282–3287, 1988.
- [39] Anil K Chaturvedi, Eric A Engels, Ruth M Pfeiffer, Brenda Y Hernandez, Weihong Xiao, Esther Kim, Bo Jiang, Marc T Goodman, Maria Sibug-Saber, Wendy Cozen, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the united states. *Journal of clinical oncology*, 29(32):4294, 2011.
- [40] Neela Guha, Paolo Boffetta, Victor Wünsch Filho, Jose Eluf Neto, Oxana Shangina, David Zaridze, Maria Paula Curado, Sergio Koifman, Elena Matos, Ana Menezes, et al. Oral health and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck and esophagus: results of two multicentric case-control studies. *American journal of epidemiology*, 166(10):1159–1173, 2007.
- [41] Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L Siegel, Lindsey A Torre, and Ahmedin Jemal. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6):394–424, 2018.
- [42] Hisham M Mehanna and K Kian Ang. *Head and neck cancer recurrence: Evidence-based, Multidisciplinary management*. Thieme, 2012.

- [43] Itsuro Kato, Koji Ono, Yoshinori Sakurai, Masatoshi Ohmae, Akira Maruhashi, Yoshio Imahori, Mitsunori Kirihata, Mitsuhiro Nakazawa, and Yoshiaki Yura. Effectiveness of bnct for recurrent head and neck malignancies. *Applied Radiation and Isotopes*, 61(5):1069–1073, 2004.
- [44] Floyd J Wheeler, David W Nigg, Jacek Capala, Peter RD Watkins, Corine Vroegindeweyj, Iiro Auterinen, Tiina Seppälä, and Darren Bleuel. Boron neutron capture therapy (bnct): implications of neutron beam and boron compound characteristics. *Medical physics*, 26(7):1237–1244, 1999.
- [45] X.5 Monte Carlo Team et al. Mcnp a general monte carlo n-particle transport code version 5 volume i: Overview and theory. *Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM, LA-UR-03-1987*, 2003.
- [46] R Farías and SJ González. Multicell model as an optimized strategy for bnct treatment planning. In *Abstracts book of the 15th International Congress on Neutron Capture Therapy, Tsukuba, Japan*, 2012.
- [47] Amirhossein Misaghi, Amanda Goldin, Moayd Awad, and Anna A Kulidjian. Osteosarcoma: a comprehensive review. *SICOT-J*, 4, 2018.
- [48] Anja Luetke, Paul A Meyers, Ian Lewis, and Heribert Juergens. Osteosarcoma treatment—where do we stand? a state of the art review. *Cancer treatment reviews*, 40(4):523–532, 2014.
- [49] Natsuo Oya, Masaki Kokubo, Takashi Mizowaki, Yuta Shibamoto, Yasushi Nagata, Keisuke Sasai, Yasumasa Nishimura, Tadao

- Tsuboyama, Junya Toguchida, Takashi Nakamura, et al. Definitive intraoperative very high-dose radiotherapy for localized osteosarcoma in the extremities. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 51(1):87–93, 2001.
- [50] AM Hong, S Millington, V Ahern, G McCowage, R Boyle, M Tattersall, L Haydu, and PD Stalley. Limb preservation surgery with extracorporeal irradiation in the management of malignant bone tumor: the oncological outcomes of 101 patients. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*, 24(10):2676–2680, 2013.
- [51] Gen Futamura, Shinji Kawabata, Hiroyuki Siba, Toshihiko Kuroiwa, Minoru Suzuki, Natsuko Kondo, Koji Ono, Yoshinori Sakurai, Minoru Tanaka, Tomoki Todo, et al. A case of radiation-induced osteosarcoma treated effectively by boron neutron capture therapy. *Radiation Oncology*, 9(1):237, 2014.
- [52] VN Mitin, VN Kulakov, VF Khokhlov, IN Sheino, AM Arnopolskaya, NG Kozlovskaya, KN Zaitsev, and AA Portnov. Comparison of bnct and gdncet efficacy in treatment of canine cancer. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S299–S301, 2009.
- [53] J Esposito, P Colautti, S Fabritsiev, A Gervash, R Giniyatulin, VN Lomasov, A Makhankov, I Mazul, A Pisent, A Pokrovsky, et al. Be target development for the accelerator-based spes-bnct facility at infn legnaro. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S270–S273, 2009.

- [54] Andrea Wittig, Jean Michel, Raymond L Moss, Finn Stecher-Rasmussen, Heinrich F Arlinghaus, Peter Bendel, Pier Luigi Mauri, Saverio Altieri, Ralf Hilger, Piero A Salvadori, et al. Boron analysis and boron imaging in biological materials for boron neutron capture therapy (bnct). *Critical reviews in oncology/hematology*, 68(1):66–90, 2008.
- [55] D. A. Young. Etching of radiation damage in lithium fluoride. *Nature*, 182:375 EP –, Aug 1958.
- [56] R.L. Fleischer, P.B. Price, R.M. Walker, and R.M. Walker. *Nuclear Tracks in Solids: Principles and Applications*. University of California Press, 1975.
- [57] G. Somogyi. Development of etched nuclear tracks. *Nuclear Instruments and Methods*, 173(1):21 – 42, 1980.
- [58] SA Durrani and RK Bull. *Solid state nuclear detection*. Pergamon Press, Oxford, 1987.
- [59] JS Armijo and HS Rosenbaum. Boron detection in metals by alpha-particle tracking. *Journal of Applied Physics*, 38(5):2064–2069, 1967.
- [60] S Altieri, A Braghieri, S Bortolussi, P Bruschi, F Fossati, P Pedroni, T Pinelli, A Zonta, C Ferrari, U Prati, et al. Neutron radiography of human liver metastases after bpa infusion. In *Proceedings eleventh world congress on neutron capture therapy*, 2004.

- [61] S Altieri, S Bortolussi, P Bruschi, F Fossati, K Vittor, R Nano, A Facchetti, P Chiari, J Bakeine, A Clerici, et al. Boron absorption imaging in rat lung colon adenocarcinoma metastases. In *Journal of Physics: Conference Series*, volume 41, page 123. IOP Publishing, 2006.
- [62] C Schütz, C Brochhausen, S Altieri, K Bartholomew, S Bortolussi, F Enzmann, D Gabel, G Hampel, CJ Kirkpatrick, JV Kratz, et al. Boron determination in liver tissue by combining quantitative neutron capture radiography (qncr) and histological analysis for bncr treatment planning at the triga mainz. *Radiation research*, 176(3):388–396, 2011.
- [63] A. Portu, O.A. Bernaola, S. Nieves, S. Liberman, and G. Saint Martin. Measurement of ^{10}B concentration through autoradiography images in polycarbonate nuclear track detectors. *Radiation Measurements*, 46(10):1154 – 1159, 2011.
- [64] Thomas J Manning and William R Grow. Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *The chemical educator*, 2(1):1–19, 1997.
- [65] Charles B Boss and KJ Freeden. Concepts, instrumentation and techniques in icp/aes. *Perkin Elmer Corporation, Beaconsfield, UK (edit)*, 1989.
- [66] Peter Andrew Sturrock. *Plasma physics: an introduction to the theory of astrophysical, geophysical and laboratory plasmas*. Cambridge University Press, 1994.

- [67] RG Fairchild, EA Tonna, Clara T Seibold, and RF Straub. Neutron autoradiographic determination of boron-10 concentration and distribution in mammalian tissue. *Radiation research*, 36(1):87–97, 1968.
- [68] S Altieri, S Bortolussi, P Bruschi, P Chiari, F Fossati, S Stella, U Prati, L Roveda, A Zonta, C Zonta, et al. Neutron autoradiography imaging of selective boron uptake in human metastatic tumours. *Applied Radiation and Isotopes*, 66(12):1850–1855, 2008.
- [69] S Bortolussi, JG Bakeine, F Ballarini, P Bruschi, MA Gadan, N Protti, S Stella, A Clerici, C Ferrari, L Cansolino, et al. Boron uptake measurements in a rat model for boron neutron capture therapy of lung tumours. *Applied Radiation and Isotopes*, 69(2):394–398, 2011.
- [70] Hiroyuki Nakamura, Hiroshi Fukuda, Frank Girald, Tooru KOBAYASHI, Jun'ichi HIRATSUKA, Takashi AKAIZAWA, Hisao NEMOTO, Jianping CAI, Katsuya YOSHIDA, and Yoshinori YAMAMOTO. In vivo evaluation of carborane gadolinium-dtpa complex as an mr imaging boron carrier. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 48(7):1034–1038, 2000.
- [71] S Packer, J Coderre, S Saraf, R Fairchild, J Hansrote, and H Perry. Boron neutron capture therapy of anterior chamber melanoma with p-boronophenylalanine. *Investigative ophthalmology & visual science*, 33(2):395–403, 1992.

- [72] Orn-Anong Pettersson, Jörgen Carlsson, and Erik Grusell. Accumulation of ^{10}B in the central degenerative areas of human glioma and colon carcinoma spheroids after sulfhydryl boron hydride administration. *Cancer research*, 52(6):1587–1591, 1992.
- [73] Agustina Portu, Andrés Eugenio Rossini, Silvia Inés Thorp, Paula Curotto, Emiliano César Cayetano Pozzi, Pablo Granell, Federico Golmar, Rómulo Luis Cabrini, and Gisela Saint Martin. Simultaneous observation of cells and nuclear tracks from the boron neutron capture reaction by uv-c sensitization of polycarbonate. *Microscopy and Microanalysis*, 21(4):796–804, 2015.
- [74] Agustina Mariana Portu, Andrés Eugenio Rossini, Mario Alberto Gadan, Omar Alberto Bernaola, Silvia Inés Thorp, Paula Curotto, Emiliano César Cayetano Pozzi, Rómulo Luis Cabrini, and Gisela Saint Martin. Experimental set up for the irradiation of biological samples and nuclear track detectors with uv c. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 21(2):129–134, 2016.
- [75] Detlef Gabel, Hartmut Holstein, Börje Larsson, Lillian Gille, Gunilla Ericson, Donald Sacker, Prantika Som, and Ralph G Fairchild. Quantitative neutron capture radiography for studying the biodistribution of tumor-seeking boron-containing compounds. *Cancer research*, 47(20):5451–5454, 1987.
- [76] Hironobu Yanagie, Koichi Ogura, Toshio Matsumoto, Masazumi Eriguchi, and Hisao Kobayashi. Neutron capture autoradiographic

- determination of ^{10}B distributions and concentrations in biological samples for boron neutron capture therapy. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 424(1):122–128, 1999.
- [77] Hironobu Yanagië, Koichi Ogura, Kenji Takagi, Kazuo Maruyama, Toshio Matsumoto, Yoshinori Sakurai, Jure Skvarc, Radomir Illic, Guido Kuhne, Tomoyuki Hisa, et al. Accumulation of boron compounds to tumor with polyethylene-glycol binding liposome by using neutron capture autoradiography. *Applied radiation and isotopes*, 61(4):639–646, 2004.
- [78] Rubén Oscar Farías, Marcela Alejandra Garabalino, Sergio Ferraris, Juan Santa María, O Rovati, Fernando Lange, Verónica Andrea Trivillin, Andrea Monti Hughes, Emiliano César Cayetano Pozzi, Silvia Inés Thorp, et al. Toward a clinical application of ex situ boron neutron capture therapy for lung tumors at the ra-3 reactor in argentina. *Medical physics*, 42(7):4161–4173, 2015.
- [79] M. Miller, J. Quintana, J. Ojeda, S. Langan, S. Thorp, E. Pozzi, M. Sztejnberg, G. Estryk, R. Nosal, E. Saire, H. Agrazar, and F. Graiño. New irradiation facility for biomedical applications at the ra-3 reactor thermal column. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7, Supplement):S226 – S229, 2009.
- [80] G Saint Martin, A Portu, GA Santa Cruz, and OA Bernaola. Stochastic simulation of track density in nuclear track detectors for ^{10}B

- measurements in autoradiography. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 269(23):2781–2785, 2011.
- [81] JF Ziegler, JP Biersack, and U Littmark. Srim-the stopping and range of ions in solids pergamon press. *New York*, 22, 1985.
- [82] Thomas B Johansson, Roland Akselsson, and Sven AE Johansson. X-ray analysis: Elemental trace analysis at the 10- 12 g level. *Nuclear Instruments and Methods*, 84(1):141–143, 1970.
- [83] Douglas A Skoog, F James Holler, and Stanley R Crouch. *Principles of instrumental analysis*. Cengage learning, 2017.
- [84] Agustina Portu, Ana Julia Molinari, Silvia Inés Thorp, Emiliano César Cayetano Pozzi, Paula Curotto, Amanda Elena Schwint, and Gisela Saint Martin. Neutron autoradiography to study boron compound microdistribution in an oral cancer model. *International journal of radiation biology*, 91(4):329–335, 2015.
- [85] S Bortolussi and S Altieri. Boron concentration measurement in biological tissues by charged particle spectrometry. *Radiation and environmental biophysics*, 52(4):493–503, 2013.
- [86] D Chiaraviglio, F De Grazia, A Zonta, S Altieri, P Pedroni, B Braghieri, F Fossati, T Pinelli, A Perotti, S Specchiarello, et al. Evaluation of selective boron absorption in liver tumors. Technical report, 1988.

- [87] Sabrina Stella, S Bortolussi, P Bruschi, C Portella, and S Altieri. Measurement of α particle energy loss in biological tissue below 2 mev. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 267(17):2938–2943, 2009.
- [88] Mark T Robinson and Ian M Torrens. Computer simulation of atomic-displacement cascades in solids in the binary-collision approximation. *Physical Review B*, 9(12):5008, 1974.
- [89] DR White, RV Griffith, and IJ Wilson. Report 46. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements*, (1):NP–NP, 1992.
- [90] JA Maxwell, JL Campbell, and WJ Teesdale. The guelph pixe software package. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 43(2):218–230, 1989.
- [91] D. R. White, R. V. Griffith, and I. J. Wilson. Report 46. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements*, os24(1):NP–NP, 04 2016.
- [92] Shigeki Obayashi, Itsuro Kato, Koji Ono, Shin-Ichiro Masunaga, Minoru Suzuki, Kenji Nagata, Yoshinori Sakurai, and Yoshiaki Yura. Delivery of 10boron to oral squamous cell carcinoma using boronophenylalanine and borocaptate sodium for boron neutron capture therapy. *Oral oncology*, 40(5):474–482, 2004.
- [93] SJ González, MR Bonomi, GA Santa Cruz, HR Blaumann, OA Calzetta Larrieu, P Menéndez, R Jiménez Rebagliati, J Longhino,

- DB Feld, MA Dagrosa, et al. First bnct treatment of a skin melanoma in argentina: dosimetric analysis and clinical outcome. *Applied radiation and isotopes*, 61(5):1101–1105, 2004.
- [94] Marcela A Garabalino, Elisa M Heber, Andrea Monti Hughes, Sara J González, Ana J Molinari, Emiliano CC Pozzi, Susana Nieves, Maria E Itoiz, Romina F Aromando, David W Nigg, et al. Biodistribution of sodium borocaptate (bsh) for boron neutron capture therapy (bnct) in an oral cancer model. *Radiation and environmental biophysics*, 52(3):351–361, 2013.
- [95] Takuji Tanaka and Rikako Ishigamori. Understanding carcinogenesis for fighting oral cancer. *Journal of oncology*, 2011, 2011.
- [96] Teruhito Aihara and Norimasa Morita. Bnct for advanced or recurrent head and neck cancer. In *Neutron Capture Therapy*, pages 417–424. Springer, 2012.
- [97] Itsuro Kato, Yusei Fujita, Akira Maruhashi, Hiroaki Kumada, Masatoshi Ohmae, Mitsunori Kirihata, Yoshio Imahori, Minoru Suzuki, Yoshinori Sakurai, Tetsuro Sumi, et al. Effectiveness of boron neutron capture therapy for recurrent head and neck malignancies. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(7-8):S37–S42, 2009.
- [98] Minoru Suzuki, Ituro Kato, Teruhito Aihara, Junichi Hiratsuka, Kenichi Yoshimura, Miyuki Niimi, Yoshihiro Kimura, Yasunori Ariyoshi, Shin-ichi Haginomori, Yoshinori Sakurai, et al. Boron neutron

- capture therapy outcomes for advanced or recurrent head and neck cancer. *Journal of radiation research*, 55(1):146–153, 2013.
- [99] Ling-Wei Wang, Yi-Wei Chen, Ching-Yin Ho, Yen-Wan Hsueh Liu, Fong-In Chou, Yuan-Hao Liu, Hong-Ming Liu, Jinn-Jer Peir, Shiang-Huei Jiang, Chi-Wei Chang, et al. Fractionated boron neutron capture therapy in locally recurrent head and neck cancer: a prospective phase i/ii trial. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 95(1):396–403, 2016.
- [100] Elisa M Heber, M Frederick Hawthorne, Peter J Kueffer, Marcela A Garabalino, Silvia I Thorp, Emiliano CC Pozzi, Andrea Monti Hughes, Charles A Maitz, Satish S Jalisatgi, David W Nigg, et al. Therapeutic efficacy of boron neutron capture therapy mediated by boron-rich liposomes for oral cancer in the hamster cheek pouch model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(45):16077–16081, 2014.
- [101] Andrea Monti Hughes, Juan Longhino, Esteban Boggio, Vanina A Medina, Diego J Martinel Lamas, Marcela A Garabalino, Elisa M Heber, Emiliano CC Pozzi, María E Itoiz, Romina F Aromando, et al. Boron neutron capture therapy (bnct) translational studies in the hamster cheek pouch model of oral cancer at the new “b2” configuration of the ra-6 nuclear reactor. *Radiation and environmental biophysics*, 56(4):377–387, 2017.

- [102] Erica L Kreimann, Maria E Itoiz, Alejandra Dargosa, Ricardo Garavaglia, Silvia Farías, Daniel Batistoni, and Amanda E Schwint. The hamster cheek pouch as a model of oral cancer for boron neutron capture therapy studies: selective delivery of boron by boronophenylalanine. *Cancer research*, 61(24):8775–8781, 2001.
- [103] Erica L Kreimann, Maria E Itoiz, Juan Longhino, Herman Blaumann, Osvaldo Calzetta, and Amanda E Schwint. Boron neutron capture therapy for the treatment of oral cancer in the hamster cheek pouch model. *Cancer research*, 61(24):8638–8642, 2001.
- [104] Amanda E Schwint and Verónica A Trivillin. ‘close-to-ideal’ tumor boron targeting for boron neutron capture therapy is possible with ‘less-than-ideal’ boron carriers approved for use in humans. *Therapeutic delivery*, 6(3):269–272, 2015.
- [105] Verónica A Trivillin, Elisa M Heber, David W Nigg, Maria E Itoiz, Osvaldo Calzetta, Herman Blaumann, Juan Longhino, and Amanda E Schwint. Therapeutic success of boron neutron capture therapy (bnct) mediated by a chemically non-selective boron agent in an experimental model of oral cancer: a new paradigm in bnct radiobiology. *Radiation research*, 166(2):387–396, 2006.
- [106] E Gregory MacEwen. Spontaneous tumors in dogs and cats: models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer and Metastasis Reviews*, 9(2):125–136, 1990.

- [107] Deli Liu, Huan Xiong, Angela E Ellis, Nicole C Northrup, Kevin K Dobbin, Dong M Shin, and Shaying Zhao. Canine spontaneous head and neck squamous cell carcinomas represent their human counterparts at the molecular level. *PLoS genetics*, 11(6):e1005277, 2015.
- [108] S Sakamoto, WS Kiger III, and OK Harling. Sensitivity studies of beam directionality, beam size, and neutron spectrum for a fission converter-based epithermal neutron beam for boron neutron capture therapy. *Medical physics*, 26(9):1979–1988, 1999.
- [109] Lucas Provenzano. Estudio dosimétrico computacional de la nueva facilidad del reactor ra-6 para bnct. Master’s thesis, Universidad Favaloro, 3 2013.
- [110] ME Kulvik, JK Vähätalo, Judit Benczik, Marjatta Snellman, J Laakso, R Hermans, E Järviluoma, M Rasilainen, Markus Färkkilä, and ME Kallio. Boron biodistribution in beagles after intravenous infusion of 4-dihydroxyborylphenylalanine–fructose complex. *Applied radiation and isotopes*, 61(5):975–979, 2004.
- [111] Jeffrey A Coderre, Eric H Elowitz, Manjeet Chadha, Richard Bergland, Jacek Capala, Darrel D Joel, Hungyuan B Liu, Daniel N Slatkin, and Arjun D Chanana. Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme using p-boronophenylalanine and epithermal neutrons: Trial design and early clinical results. *Journal of neuro-oncology*, 33(1-2):141–152, 1997.

- [112] WS Kiger, III, MR Palmer, KJ Riley, RG Zamenhof, and PM Busse. A pharmacokinetic model for the concentration of ^{10}B in blood after boronophenylalanine-fructose administration in humans. *Radiation research*, 155(4):611–618, 2001.
- [113] *Current Status of Neutron Capture Therapy*. Number 1223 in TECDOC Series. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Vienna, 2001.
- [114] Jeffrey A Coderre, Michael S Makar, Peggy L Micca, Marta M Nawrocky, Hungyuan B Liu, Darrel D Joel, Daniel N Slatkin, and Howard I Amols. Derivations of relative biological effectiveness for the high-LET radiations produced during boron neutron capture irradiations of the 9L rat gliosarcoma in vitro and in vivo. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 27(5):1121–1129, 1993.
- [115] Tatsuhiko Sato, Shin-ichiro Masunaga, Hiroaki Kumada, and Nobuyuki Hamada. Depth distributions of rbe-weighted dose and photon-isoeffective dose for boron neutron capture therapy. *Radiation protection dosimetry*, 183(1-2):247–250, 2019.
- [116] María Pedrosa-Rivera, Javier Praena, Ignacio Porras, María José Ruiz-Magaña, and Carmen Ruiz-Ruiz. A simple approximation for the evaluation of the photon iso-effective dose in boron neutron capture therapy based on dose-independent weighting factors. *Applied Radiation and Isotopes*, 157:109018, 2020.

- [117] Sara J González and Gustavo A Santa Cruz. The photon-isoeffective dose in boron neutron capture therapy. *Radiation research*, 178(6):609–621, 2012.
- [118] DE Lea and DG Catcheside. The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberrations intradescantia. *Journal of genetics*, 44(2-3):216–245, 1942.
- [119] Douglas Edward Lea et al. Actions of radiations on living cells. *Actions of radiations on living cells.*, 1946.
- [120] Wachiraphan Supsavhad, Wessel P Dirksen, Chelsea K Martin, and Thomas J Rosol. Animal models of head and neck squamous cell carcinoma. *The Veterinary Journal*, 210:7–16, 2016.
- [121] Yuk-Kwan Chen and Li-Min Lin. Dmba-induced hamster buccal pouch carcinoma and vx2-induced rabbit cancer as a model for human oral carcinogenesis. *Expert review of anticancer therapy*, 10(9):1485–1496, 2010.
- [122] E Vairaktaris, S Spyridonidou, V Papakosta, A Vylliotis, A Lazaris, D Perrea, C Yapijakis, and E Patsouris. The hamster model of sequential oral oncogenesis. *Oral oncology*, 44(4):315–324, 2008.
- [123] Sara J González and Daniel G Carando. A general tumour control probability model for non-uniform dose distributions. *Mathematical medicine and biology: a journal of the IMA*, 25(2):171–184, 2008.

- [124] Thomas E Schmid, Günther Dollinger, Wolfgang Beisker, Volker Hable, Christoph Greubel, Susanne Auer, Anja Mittag, Attila Tarnok, Anna A Friedl, Michael Molls, et al. Differences in the kinetics of γ -h2ax fluorescence decay after exposure to low and high let radiation. *International journal of radiation biology*, 86(8):682–691, 2010.
- [125] Enrique Alvarez, Edward G Fey, Pascal Valax, Zachary Yim, Jeffrey D Peterson, Medhi Mesri, Michael Jeffers, Matthew Dindinger, Nancy Twomlow, Ashwini Ghatpande, et al. Preclinical characterization of cg53135 (fgf-20) in radiation and concomitant chemotherapy/radiation-induced oral mucositis. *Clinical cancer research*, 9(9):3454–3461, 2003.
- [126] Lidia Strigari, Piernicola Pedicini, Marco D’Andrea, Paola Pinnarò, Laura Marucci, Carolina Giordano, and Marcello Benassi. A new model for predicting acute mucosal toxicity in head-and-neck cancer patients undergoing radiotherapy with altered schedules. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 83(5):e697–e702, 2012.
- [127] Xiaoyan Wu, Peili Chen, Stephen T Sonis, Mark W Lingen, Ann Berger, and F Gary Toback. A novel peptide to treat oral mucositis blocks endothelial and epithelial cell apoptosis. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 83(3):e409–e415, 2012.
- [128] Georg Stüben, Albert J van der Kogel, and Emmanuel van der Schueren. Biological equivalence of low dose rate to multifractionated

- high dose rate irradiations: investigations in mouse lip mucosa. *Radiotherapy and oncology*, 42(2):189–196, 1997.
- [129] Iiro Auterinen, Pekka Hiismäki, Petri Kotiluoto, Rolf J Rosenberg, Seppo Salmenhaara, Tiina Seppälä, Tom Serén, Vesa Tanner, Carita Aschan, Mika Kortensniemi, et al. Metamorphosis of a 35 year-old triga reactor into a modern bnct facility. In *Frontiers in neutron capture therapy*, pages 267–275. Springer, 2001.
- [130] Hanna Koivunoro, Leena Kankaanranta, Tiina Seppälä, Aaro Haapaniemi, Antti Mäkitie, and Heikki Joensuu. Boron neutron capture therapy for locally recurrent head and neck squamous cell carcinoma: An analysis of dose response and survival. *Radiotherapy and Oncology*, 137:153–158, 2019.
- [131] Ian Postuma. *Clinical application of accelerator-based Boron Neutron Capture Therapy: optimization of procedures, tailoring of a neutron beam and evaluation of its dosimetric performance*. PhD thesis, 01 2016.
- [132] Jia-Cheng Lee, Yi-Wei Chen, Keh-Shih Chuang, Fang-Yuh Hsu, Fong-In Chou, Shih-Ming Hsu, Sang-Hue Yen, and Yuan-Hung Wu. The dosimetric impact of shifts in patient positioning during boron neutron capture therapy for brain tumors. *BioMed research international*, 2018, 2018.

- [133] CPJ Raaijmakers, EL Nottelman, and BJ Mijnheer. Phantom materials for boron neutron capture therapy. *Physics in Medicine & Biology*, 45(8):2353, 2000.
- [134] DR White, J Booz, RV Griffith, JJ Spokas, and IJ Wilson. 4. the composition of body tissues. *Reports of the International Commission on Radiation Units and Measurements*, (1):20–23, 1989.
- [135] S Fatemi S Bortolussi N Protti CR Magni C Gong SJ González I Postuma, L Provenzano. Evaluation of the therapeutic consequences of patient movement during bnct treatment for the infn rfq epithermal neutron beam. In *Abstracts book of the 10th Young Member's Boron Neutron Capture Therapy meeting, Helsinki, Finlandia, 2019*.