



Universidad de la República - CSIC

Formulario de Informe final del Programa de Apoyo  
a la Investigación Estudiantil  
Edición 2014



DATOS DEL PROYECTO	
•	Título del Proyecto: Eficacia biológica relativa de Rayos-X de diferentes energías en organismos unicelulares eucariotas.
•	Número ID del proyecto: 235
•	Área de conocimiento: Biofísica- Radiobiología
•	Facultad o Servicio: Facultad de Medicina
•	Nombre completo de los-as Integrantes del equipo: Guzmán Dufrechou, Carlos Vega, Patricio Viera, Lucas Rodríguez (referente)
•	Correo electrónico del/de la estudiante referente: lhrc_15@hotmail.com
•	Nombre completo del/de la docente orientador-a: Olga Lillo
•	Correo electrónico del/de la docente orientador-a: olgalillo@fmed.edu.uy

**INFORME FINAL**  
(desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

**1) Objetivos del proyecto**

Objetivo General:

Estudiar a nivel celular y molecular los efectos biológicos de las radiaciones de diferente naturaleza y energía más frecuentemente utilizadas con fines terapéuticos en Medicina.

Objetivos Específicos:

- 1) Analizar en células eucariotas las frecuencias de sobrevida y mutagénesis producidas por igual rango de dosis de rX y electrones de diferentes energías.
- 2) Cuantificar la Eficacia Biológica Relativa, para letalidad y mutagénesis, de rX y electrones con las energías utilizadas en terapia radiante. Se tomará como referencia la dosis de r<sub>y</sub> del Co-60 (1.25 MeV) generadora de isoeфекto.
- 3) Evaluar a nivel molecular, la fragmentación del ADN producida por rX y electrones con las dosis y energías utilizadas en estudios de sobrevida y mutagénesis.

**2) Descripción de actividades principales**

- 1 Lectura de trabajos relacionados, contacto con tareas de laboratorio, aprendizaje en la manipulación de herramientas e instrumentos.
- 2 Primer experimento de sobrevida a rX, rGamma y e. Análisis de resultados. Concepto y confección de intervalos de confianza
- 3 Primer experimento de mutagénesis (elaboración, experimentación y análisis de resultados)
- 4 Realización de primera corrida electroforética por campos pulsados. Análisis de resultados. Búsqueda bibliográfica adicional.
- 5 Segundo experimento completo, analizando sobrevida, mutagénesis y degradación del ADN frente a dosis crecientes de rX, rGamma y e.
- 6 3er repetición experimental. Promedios de resultados. Reflexiones
- 7 Experimentación adicional si fuera necesaria. Búsqueda bibliográfica adicional, elaboración de resultados y conclusiones.
- 8 Elaboración de informe final.

### 3) Ejecución de las actividades principales

Se pudieron realizar todas las actividades descritas en el cronograma de ejecución a excepción de las irradiaciones con electrones.

Si bien en principio como parte del proyecto nos propusimos dosificar la muestra con haces de electrones, a fin de comparar con rayos gamma. Pero dado que esto implica que el acelerador LINAC trabaje cerca del umbral de calentamiento comprometiendo su funcionamiento, tuvimos que optar por no realizar el experimento con electrones.

Esto motivó a que se postergara la entrega final del proyecto hasta el plazo máximo otorgado mediante una prórroga, y se agregaron dos experimentos más (uno de 6MeV y otro de 10MeV) en ese lapso de tiempo, para asegurar un resultado estadístico más acertado.

### 4) Resultados

Para los experimentos iniciales de sobrevivencia se observó una diferencia significativa en los resultados para altas dosis (110 Gy), sin embargo, luego de agregar experimentos adicionales esto no se comprobó. Vemos que para las dosis de 80Gy y 110Gy existe una diferencia significativa entre R(G) y Rayos-X pero no así entre los Rayos-X de diferentes energías, corroborándose así el resultado esperado de igual letalidad en Rayos-X. Debido a esto, la diferencia en la eficacia biológica relativa para sobrevivencia es despreciable.

Se evidenció una gran variabilidad en la frecuencia mutagénica espontánea y a su vez las tendencias se ven diferenciadas por tal motivo. Los últimos experimentos redujeron la tendencia ascendente para la mutagénesis de 110Gy que se venía observando en los experimentos iniciales, lo cual evidencia la importancia de la letalidad de las células mutadas. Al revés de lo esperado tuvimos una gran superposición de los valores de mutagénesis para rayos(gamma) y Rayos-X de 6MeV y 10MeV. Si bien para éste caso se calculó la eficacia biológica relativa para mutagénesis, los valores no tienen la jerarquía suficiente como para justificar dicho cálculo. La diferencia que se observa en los Rayos-X de 6MeV a dosis de 110Gy se debe a la variabilidad experimental de la mutagénesis.

La corrida electroforética no se observa correctamente debido a motivos que pueden ser en primer lugar, pocas células y por lo tanto, poco ADN en la muestra a analizar y en segundo lugar, debido al poco uso del equipo electroforético el cual fue reutilizado luego de estar más de un año sin uso. Debido a estos motivos no se pudieron sacar conclusiones sobre la corrida electroforética.

Los resultados obtenidos son preliminares. No se observó diferencia significativa entre rX de 6 MeV y de 10 MeV para sobrevivencia ni para mutagénesis. Si bien los valores de EBR fueron calculados para 50 % de sobrevivencia y para el valor de mutagénesis de  $8 \times 10^{-6}$ . Los mismos no presentan jerarquía estadística ya que los intervalos de confianza de las curvas se superponen. Tanto a nivel molecular como a nivel celular no hemos encontrado diferencias que justifiquen por sí mismos un análisis diferencial, en relación a las energías estudiadas durante la

planificación de tratamientos radiantes. Sin embargo estos hallazgos preliminares brindan una base para estudios con mayor rango de dosis, que permita optimizar el ajuste de las pendientes de letalidad y mutagénesis. Así mismo las curvas dosis-efecto encontradas muestran la necesidad de experimentación adicional en células de mamíferos y para mayores niveles de letalidad y mutagénesis, a los efectos de evaluar, para dichos observables, posibles diferencias entre EBR de diferentes energías de rX utilizadas en Radio-Oncología.

### **5) Difusión del proyecto:**

Los resultados parciales de este proyecto fueron presentados en el X Congreso Regional Latinoamericano IRPA de Protección y Seguridad Radiológica, así como en la jornada de celebración del patrimonio histórico cultural en Facultad de Medicina, cada uno con su correspondiente póster y presentación a cargo de los estudiantes. En caso de ser requeridos dichos posters están disponibles para ser presentados y/o evaluados.

### **6) Dificultades en la realización del proyecto:**

Enfrentamos problemas con el equipo de irradiación (LINAC) del Instituto del Cáncer retrasando el cronograma, e imposibilitando como se aclaró anteriormente, la irradiación con electrones.

Otra gran dificultad enfrentada fue la tardanza de traslado desde la facultad (donde preparamos las muestras) hasta el Centro de Investigaciones Nucleares (donde irradiamos con gamma), específicamente arruinando uno de los experimentos a causa de un paro de taxis haciendo imposible su uso para el estudio estadístico.

A su vez uno de los cultivos se vio contaminado debido a la compleja manipulación que implica el sembrado de las muestras irradiadas.

También el poco uso del equipo electroforético y por lo tanto su bajo mantenimiento, llevó a que el experimento que implicaba el uso del mismo no diera resultados del todo claros.

### **7) Sugerencias y comentarios:**

La única sugerencia que el grupo puede hacer para intentar mejorar un poco más el programa, fue que se nos hizo bastante difícil el acceso a la información relacionada ya sea en base al cronograma a seguir, como a la metodología para subir los archivos solicitados y el acceso al sistema de formularios web. Una modificación en la página web para hacer dicha información más accesible mejoraría eso sin problema.

## Resumen publicable:

### **Eficacia biológica relativa de RX de diferentes energías en organismos unicelulares eucariotas.**

*Olga Lillo (Docente)*

*Guzman Dufrechou, Carlos Vega, Patricio Viera, Lucas Rodriguez.*

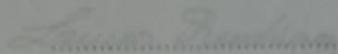
*Facultad Medicina, Dep. de Biofísica, Radiobiología.*

En Radioterapia Oncológica se utilizan rayos-X de diferentes energías según la localización y biología del tumor. A todas se les ha atribuido el mismo riesgo biológico. Sin embargo se han observado importantes diferencias entre la Eficacia Biológica Relativa (relación entre las dosis de diferentes tipos de radiaciones necesarias para generar el mismo efecto biológico) de Rayos-X usados en diagnóstico (KeV) y la EBR de Rayos-X usados en terapia oncológica (MeV). Se tuvo como objetivo la comparación de letalidad y mutagénesis a nivel celular y degradación del ADN a nivel molecular producida por los Rayos-X de energías usadas en la práctica Radio-Oncológica (6 y 10MeV). Para ello, se utilizó como modelo celular una cepa de levadura, las cuales son organismos unicelulares eucariotas con estructura y función molecular similares a las células humanas. Expusimos dichas células a distintos tipos de radiaciones y se determinó la frecuencia relativa de sobrevivientes [ $S = N^{\circ} \text{ sobrevivientes} / N^{\circ} \text{ sembradas(No)}$ ] y la frecuencia con la que estas mutaban para dosis crecientes de rX con las energías mencionadas. Se calcularon los valores de EBR para letalidad y mutagénesis, tomando como radiación de referencia:  $\gamma^{60}\text{Co}$  [1.25MeV]. No encontrando diferencias entre las distintas energías estudiadas de rX. Los resultados pueden aportar elementos para profundizar en el análisis de la relación beneficio/riesgo en los procedimientos médicos con radiaciones ionizantes.

**Comentarios del docente orientador:** desde el inicio del trabajo los estudiantes comprendieron adecuadamente el centro de la investigación, realizando con entusiasmo el procedimiento experimental. Se obtuvieron resultados muy tempranamente con los que se realizó una comunicación en Congreso Latinoamericano de la Asociación Internacional de Protección Radiológica (IRPA). Se presentaron problemas en el funcionamiento del Acelerador Lineal del INCA por lo que no se pudo realizar la rama experimental con electrones, lo que desanimó a los estudiantes y decayó el alto rendimiento inicial del grupo. Si bien el desempeño individual fue heterogéneo, el grupo logró elaborar una conclusión sobre las posibles diferencias en los efectos a nivel celular (letalidad y mutagénesis) y a nivel molecular (fragmentación del ADN), de las radiaciones electromagnéticas de diferentes energías usadas en Radioterapia. Los resultados del presente trabajo son preliminares. Si bien no se evidenció la diferencia esperada a nivel mutagénico, se justifica la realización de experimentación adicional en relación a Eficacia Biológica Relativa con electrones de diferentes energías. El grupo culminó el trabajo de forma aceptable.

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I-D de los Servicios lo siguiente:

- Un CD con el informe final en formato .odt o .pdf. Y con el póster en su versión digital en formato .jpg o .pdf
- Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)



FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al docente orientador que brinde una opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los resultados expuestos a través de este informe y el contenido de su resumen publicable. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:



.....  
FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR