



Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Exactas,
Ingeniería y Agrimensura



TESINA DE LICENCIATURA EN FÍSICA

**Estudio de los efectos de haces de fotones X y de
electrones terapéuticos sobre la sangre a dosis utilizadas
en radioterapia convencional, intraoperatoria y
radiocirugía**

AUTOR: JUAN IGNACIO OLAZAGOITIA

DIRECTORA: DRA. MARIEL ELISA GALASSI

CODIRECTOR: MAG. JOSÉ LUIS DUMONT

Diciembre 2025

Agradecimientos

A todas aquellas personas e instituciones que obraron por mi formación, tanto académica como personal, estas palabras se las dedico con inmensa gratitud.

Doy gracias a mis padres, quienes fueron mis primeros educadores y me han brindado la posibilidad de estudiar una carrera universitaria con el esfuerzo de su trabajo.

No fue sino gracias a mi profesora del secundario Marta Risso que me fasciné por la Física al ella resolver con didáctica cada una de mis curiosidades. Así fue que antes de terminar el colegio sabía que me quedaban muchas más curiosidades por resolver.

Durante mi formación conocí grandiosas personas con las que compartimos no solo mañanas, tardes y noches de estudio, sino también una amistad que perdurará por los años. A su vez, tuve la dicha de aprender de magníficos profesores que, en virtud de sus saberes y compromiso con la educación, hicieron este camino de lo más apasionante. Todo esto bajo el techo de la Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura que supo ser mi segundo hogar durante estos últimos años y guardará en mí innumerables recuerdos.

Mis agradecimientos se extienden miles de kilómetros de aquí hasta la Universidad de Nuevo México que me abrió sus puertas con gran calidez durante mi intercambio al haber sido otorgado el privilegio de una beca Fulbright.

Este trabajo no hubiera sido posible sin mis directores Mariel Galassi y José Luis Dumont quienes dedicaron parte de su valioso tiempo en formarme con exhaustiva atención al detalle y paciencia absoluta. Además agradecer al Centro de Radioterapia Dr Reñé por tener la cortesía de prestar sus instalaciones para la irradiación de las muestras, a la Facultad de Ciencias Biomédicas y Farmacia (FCByF) por poner a disposición sus equipos de medición, al Hospital Regional Centenario y al Centro Regional de Hemoterapia (CRH) por facilitar las muestras de sangre, al Instituto de Física de Rosario (IFIR) por proporcionar sus laboratorios y capital humano. Por último, agradecer al Grupo de Física Biomédica del IFIR por recibirme con gran

hospitalidad y enseñarme un vasto abanico de temáticas.

Índice general

Resumen	1
Motivación	3
1. Introducción	6
1.1. Haces de radiación	9
1.1.1. Interacción de la radiación con la materia	9
1.1.2. Haces de Electrones	10
1.1.3. Haces de Rayos X	15
1.2. Dosimetría	17
1.2.1. Dosis absorbida	17
1.2.2. Exposición	19
1.2.3. Equilibrio Electrónico	20
1.2.4. Teoría de Cavidades	22
1.3. Radiobiología	25
1.4. Características de la sangre	27
1.4.1. Composición de la sangre	27
1.4.2. Globulos Rojos humanos	27
1.4.3. Agregación eritrocitaria	29
2. Materiales y Métodos	31
2.1. Muestras de sangre	32
2.1.1. Extracción	32
2.1.2. Bioseguridad	32
2.2. Irradiación de las muestras	34
2.2.1. Fuente de radiación	34

2.2.2. Radioprotección	36
2.2.3. Fantoma de agua	37
2.2.4. Protocolo de irradiación	38
2.2.5. Irradiación con haz de electrones	39
2.2.6. Irradiación haz de fotones X	41
2.3. Agregómetro Eritrocitario de Chip Óptico	43
2.3.1. Medición cinética de agregación	45
2.3.1.1. Ensayo 1	46
2.3.1.2. Ensayo 3	46
2.4. Microscopio óptico	47
2.4.1. Toma de imágenes en microscopio óptico	47
3. Resultados y Discusión	49
3.1. Cinética de agregación	50
3.1.1. Ensayo 1	50
3.1.2. Ensayo 2	50
3.1.3. Ensayo 3	51
3.2. Análisis de imágenes	54
3.2.1. Ensayo 1	54
3.2.2. Ensayo 2	55
3.2.3. Ensayo 3	56
3.3. Discusión de resultados	58
3.3.1. Cinética de agregación	58
3.3.2. Análisis de imágenes	59
4. Conclusión	60
5. Anexos	62
5.1. Fluencia	63
5.2. Kerma	65
5.3. Valor W	68
5.4. Plano sala de tratamiento	70
5.5. Cálculo de incertezas	71

5.5.1. Incertezza en la entrega de dosis	71
----------------------------------------------------	----

Resumen

La radioterapia es un tratamiento oncológico que consiste en entregar una dosis de radiación ionizante controlada al paciente con el fin de conseguir un control tumoral y en lo posible su eliminación. Esta terapia se divide en distintas categorías según el tipo de radiación empleada y forma de administrarla. La *radioterapia convencional* utiliza haces de electrones y fotones con energías entre 9 – 18 MeV y tasas de dosis entre 3-6 Gy/min. Esta terapia consiste en depositar una cierta cantidad de dosis fraccionada en varios días de tratamiento. Un fraccionamiento típico implica entregar una dosis entre 180 – 200 cGy por cinco días a la semana durante siete semanas en tratamientos radicales (70 Gy totales) o cinco semanas en tratamientos adyuvantes (50 Gy totales). Por otro lado, la *radioterapia intraoperatoria* emplea los mismos haces de radiación y consiste en suministrar una alta dosis (10 – 20 Gy) en una única entrega sobre el lecho quirúrgico inmediatamente luego de la remoción del tumor. Por último, la *radiocirugía* es una técnica que utiliza haces de rayos X, rayos gamma o protones y consiste en entregar una alta dosis entre 15 – 24 Gy, usualmente en una única sesión, con gran precisión utilizando sistemas estereotácticos para tratar tumores cerebrales sin necesidad de cirugía.

El objetivo de esta Tesina es estudiar cambios en parámetros hemorreológicos de sangre entera irradiada con haces de electrones y fotones X a dosis utilizadas en radioterapia convencional, intraoperatoria y radiocirugía. El estudio del efecto de la radiación en la sangre es relevante desde un punto de vista tanto clínico: desorden de sangrado, trombosis, recuento de glóbulos rojos; y teórico por ser protagonista en hipótesis de la ventaja terapéutica de la radioterapia FLASH. Este último consiste en entregar una dosis al paciente a una alta tasa (40 Gy/s). De acuerdo a evidencia experimental, este tratamiento permite reducir considerablemente la toxicidad en el tejido sano, manteniendo la misma eficacia en el control tumoral que la radioterapia convencional. Sin embargo, no se conocen aún los mecanismos a nivel celular responsables de esta ventaja terapéutica. Una hipótesis plantea que en la rápida entrega de la

dosis (fracciones de segundo) sólo un pequeño volumen de la sangre circulante es irradiada a altas dosis. Lo que reduciría considerablemente las señales pro-inflamatorias que se producen en la radioterapia convencional en la que toda la sangre circulante recibe bajas dosis de radiación.

En el Capítulo 1 de este trabajo se detallan características de la interacción de la radiación ionizante utilizada en radioterapia convencional, intraoperatoria y radiocirugía con la materia. Se explican conceptos básicos de dosimetría que permiten caracterizar el haz de radiación a partir de la dosis que deposita en agua. Luego, se describe el efecto de la radiación sobre el tejido biológico y particularmente su efecto sobre los glóbulos rojos. En el Capítulo 2 se presentan los materiales utilizados, entre ellos, se diseño y construyó un fantoma de agua que permitió la irradiación de muestras de sangre para el desarrollo de este trabajo. Además, se detallan los métodos experimentales empleados bajo protocolos de seguridad y los criterios de análisis de las mediciones. En el Capítulo 3 se exponen los resultados obtenidos para cada ensayo y seguidamente la discusión de los mismos comparando con trabajos anteriores. En el Capítulo 4 se plasman las conclusiones de esta Tesina y mejoras a futuro.

Los resultados obtenidos del tiempo mitad para muestras irradiadas con electrones muestran tendencias semejantes a trabajos anteriores [Ezequiel Lizandro Estrada, 2021]. Además, a través del análisis de imágenes de microscopio óptico se halló diferencia significativa respecto al control en el porcentaje de células equinocitadas entre muestras irradiadas a 25 Gy con haces de electrones y rayos X. Este resultado se correlaciona con trabajos publicados recientemente [Della Rosa et al., 2025] en los que se observan daños al nivel de la membrana eritrocitaria por senescencia de colorante FM-464. Se concluye que la radiación ionizante utilizada en radioterapia convencional, intraoperatoria y radiocirugía deteriora la integridad de glóbulos rojos pudiendo ocasionar efectos adversos como generación de trombos derivando en problemas de microcirculación.

Motivación

El uso controlado de radiación ionizante ha permitido grandes avances en el campo de la salud humana desde los primeros años de su descubrimiento. Su empleo en el diagnóstico por imágenes (radiografía, tomografía computarizada, PET-CT), tratamiento de enfermedades oncológicas (radioterapia, radioterapia interna vectorizada) y prevención de enfermedades como la *enfermedad de injerto contra huésped* [Alet et al., 2025] , han contribuido a extender ampliamente la esperanza de vida poblacional siendo de alrededor de 40 años en 1890 (previo al descubrimiento de rayos X) a 73 años hoy en día según la ONU.

La radiación ionizante, dependiendo del tipo y energía, interactúa con la materia mediante diversos mecanismos según su densidad y composición. En el ámbito de la Física Médica, el objeto de interés es la interacción de la radiación con el tejido biológico, más concretamente, con las células que componen dicho tejido. La radiación puede generar daños en distintas partes de la célula como su membrana externa u organelas dentro de ella como ser la mitocondria o el núcleo. Este último es el principal blanco de interés para el tratamiento de enfermedades oncológicas mediante radioterapia, ya que, en él se aloja el ADN de la célula. Las lesiones en el ADN pueden llevar a la célula a una muerte programada llamada *apoptosis celular* si los mecanismos de reparación no pueden remediar el daño, como también inducir mutaciones genéticas que pueden derivar en una transformación de la célula en cancerosa. La radioterapia tiene como objetivo concentrar una dosis de radiación en el volumen tumoral que consiga la apoptosis de estas células cancerosas e impartir la menor dosis posible en tejido sano generando lesiones leves y reparables. De esta manera, se busca el control tumoral, en lo posible su eliminación, evitando el daño genético en células sanas que podrían inducir una mutación.

La radioterapia es una técnica médica empleada para un gran número de tumores como cáncer de cabeza y cuello, mama, pulmón, próstata, entre otros. A menudo es combinada con otras técnicas como quimioterapia o cirugía. Se estima que alrededor del 50% de todos los

pacientes oncológicos reciben radioterapia en el alguna etapa de su tratamiento.

En el año 2022 se registraron 21.600 nuevos casos de cáncer de mama en Argentina, esta cifra representa una tasa bruta de 91,8 cada 100.000 mujeres. En el mismo año, se atribuyeron al cáncer de mama 5.750 defunciones siendo la principal causa de muerte por tumores en mujeres. [Mortalidad por cáncer de mama en mujeres]

Un tratamiento empleado es la remoción quirúrgica de la zona tumoral seguido de una irradiación inmediata a una alta dosis sobre el lecho circundante, a esta práctica se la conoce como *radioterápia intraoperatoria* (IORT por sus siglas en inglés). Un tratamiento alternativo es la irradiación exterior (EBRT) en la cual se le entrega a la paciente una dosis fraccionada en un cierto número de días posteriores a la operación. Sin embargo, estudios han demostrado que la IORT presenta menor complicación post-irradiación que EBRT y podría ser el tratamiento de elección en los casos elegibles [Zangouri et al., 2024].

Un tratamiento prometedor, en etapa de desarrollo, es la radioterapia FLASH (RT-FLASH) el cual se basa en suministrar una dosis a tasas ultra altas (40 Gy/s). De acuerdo a evidencia en experimentación clínica, esta alta tasa de dosis permite reducir considerablemente la toxicidad en el tejido sano, manteniendo la misma eficacia en el control tumoral que la radioterapia convencional. Sin embargo, no se conocen aún los mecanismos a nivel celular responsables de esta ventaja terapéutica. Una hipótesis plantea que en la rápida entrega de la dosis (fracciones de segundo) sólo un pequeño volumen de la sangre circulante es irradiada a altas dosis. Lo que reduciría considerablemente las señales pro-inflamatorias que se producen en la radioterapia convencional en la que toda la sangre circulante recibe bajas dosis de radiación. No obstante, se requieren investigaciones que avalen o refuten esta hipótesis [Limoli and Vozenin, 2023].

Entender el impacto de la radiación en la sangre es crucial en escenarios médicos como radioterapia, accidentes nucleares, viajes espaciales; donde la exposición a radiación es una preocupación. Estudios han demostrado que la radiación ionizante tiene un efectivo significativo en la sangre impactando estructuras celulares, su funcionamiento y propiedades hemorreológicas en general. A altas dosis induce daño en células madres, inmunosupresión, susceptibilidad a infecciones y desorden de sangrado [Haubner et al., 2013].

En el campo de la radioterapia, se ha encontrado variación en el impacto sobre la sangre dependiendo si se trata de radioterapia convencional, FLASH o hadronterapia, la cual utiliza núcleos atómicos como partícula balística. Las modalidades más avanzadas prometen minimizar

el estrés oxidativo, preservando la función hematológica normal.

Es por ello que el estudio del efecto de la radiación en la sangre es un tema de interés en la comunidad científica a nivel mundial. El objetivo de esta tesina es estudiar el efecto de la radiación utilizada en radioterapia convencional, intraoperatoria y radiocirugía en la cinética de agregación de los glóbulos rojos y evaluar el deterioro de los mismos a través del análisis de imágenes de microscopio óptico.

Capítulo 1

Introducción

La Física Médica es un área interdisciplinaria que aplica conceptos de física, química, biología y medicina con el fin de desarrollar tratamientos, diagnosticar y prevenir enfermedades. La rama de la Física Médica que se dedica particularmente a tratar enfermedades oncológicas mediante radiación ionizante se la denomina *Radioterapia*. Dentro de ella se divide en sub-ramas según las características de la radiación empleada y forma de administrarla, siendo la Radio-terapia Convencional la más comúnmente utilizada. Esta terapia consiste en lograr un control tumoral a partir de impactar haces de electrones o fotones con energías entre 9 – 18 MeV, generados por medio de un acelerador lineal de uso clínico (clinac) a tasas de dosis moderadas, sobre el paciente.

La elección del tipo de partícula a utilizar depende de las características del tumor a tratar. Los haces de electrones son empleados en el tratamiento de tumores superficiales como melanomas o en irradiación de lecho quirúrgico en *radioterapia intraoperatoria*. Mientras que los haces de fotones suelen utilizarse para tratar tumores más internos como próstata, pulmón y cerebro. Esta diferencia en la elección del tipo de radiación se debe a la deposición de dosis en profundidad de cada haz. En la Figura 1.1 se muestra una comparación de las curvas porcentaje de dosis máxima en agua líquida, medio el cual suele aproximarse como tejido biológico, respecto a la profundidad. Puede apreciarse como el pico de dosis máxima, tanto en electrones como en fotones, se da a mayor profundidad conforme aumenta la energía del proyectil. Además, el decaimiento de la dosis con la profundidad es más pronunciado para electrones que para fotones. Todas estas características son consideradas al momento de definir un tratamiento mediante radioterapia con el objetivo de concentrar la mayor cantidad de dosis en el volumen tumoral y la menor dosis posible en tejido sano.

En las siguientes secciones se detallará qué es la radiación ionizante, su interacción con la materia, su efecto sobre tejido biológico, características de la sangre y particularmente de los glóbulos rojos el cual es el objeto de estudio de este trabajo.

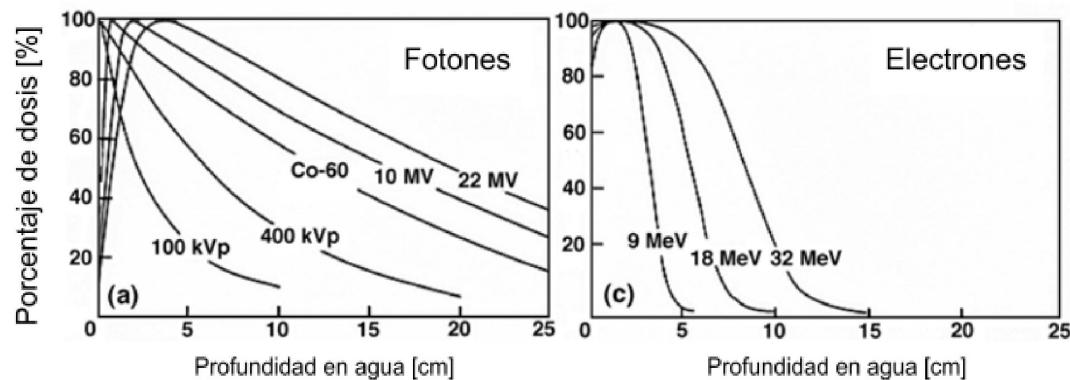


Figura 1.1: Comparación de curvas de dosis en profundidad para haces de electrones y fotones de distintas energías. Puede apreciarse distinto comportamiento en cuanto a la profundidad de dosis máxima y decadimento en función de la profundidad para cada haz. [Podgoršak, 2006]

1.1. Haces de radiación

Un haz de radiación es un conjunto de partículas que se propagan con cierta energía cinética en una dirección del espacio. Estas partículas pueden ser fotones, electrones, neutrones o núcleos atómicos. El efecto que estas produzcan en el medio que atraviesan dependerá del tipo de partícula, su energía cinética y las características del medio, como el número atómico Z de los átomos que lo conforman. En la siguiente sección explicaremos conceptos básicos del fenómeno de interacción radiación materia y detallaremos particularmente lo haces de fotones y electrones.

1.1.1. Interacción de la radiación con la materia

La interacción de la radiación con la materia a nivel microscópico es estocástica, lo cual significa que es aleatoria y cada interacción particular tiene asociada una cierta probabilidad. La radiación puede ser clasificada en dos categorías principales, *no-ionizante* y *ionizante*; dependiendo de su habilidad de ionizar los átomos del medio, es decir, arrancar electrones de estados ligados al átomo. El potencial de ionización de átomos, la mínima energía requerida para ionizar un átomo, varía desde unos pocos eV para elementos alcalinos hasta 24.6 eV para el caso del Helio (He), el cual es un gas noble. Podemos clasificar, además, la radiación ionizante en *directamente ionizante* e *indirectamente ionizante*, dependiendo de la carga de las partículas. Así entonces tenemos que la radiación se clasifica en:

- Radiación no ionizante: no puede ionizar la materia ya que su energía es menor que el potencial de ionización de los átomos o moléculas que componen el medio que atraviesa.
- Radiación ionizante: puede ionizar la materia de forma directa o indirecta ya que su energía supera el potencial de ionización de los átomos o moléculas que componen el medio que atraviesa
 - Directamente ionizante (partículas cargadas): electrones, protones, partículas alfa, iones pesados.
 - Indirectamente ionizante (partículas neutras): fotones (rayos X, gamma), neutrones

La radiación directamente ionizante depositan energía en el medio mediante interacción coulombiana entre las partículas cargadas y los electrones orbitales de los átomos del medio.

La radiación indirectamente ionizante deposita energía en el medio mediante un proceso de dos pasos. Primero, una partícula cargada es liberada al medio (fotones pueden liberar electrones o positrones, neutrones pueden liberar protones o partículas pesadas activando los núcleos de los átomos). Segundo, la partícula cargada liberada deposita su energía en el medio mediante colisiones con los electrones orbitales de los átomos.

En este trabajo nos interesa particularmente la interacción con la materia de los fotones X (radiación indirectamente ionizante) y electrones (radiación directamente ionizante).

1.1.2. Haces de Electrones

Los electrones al ser partículas cargadas experimentan interacción mediante fuerza de Coulomb con electrones orbitales y núcleos de los átomos que conforman el medio absorbente. Estas interacciones pueden dividirse en tres categorías dependiendo el tamaño del parámetro de impacto clásico (b) comparado con el radio clásico del átomo (a), ver Figura 1.2.

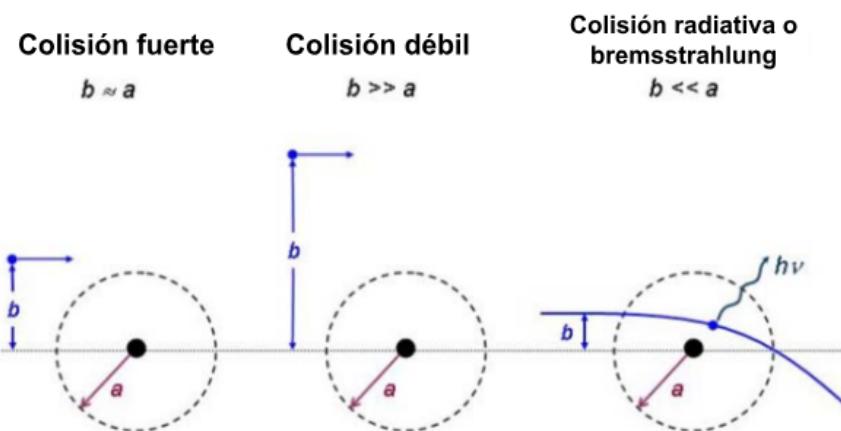


Figura 1.2: Comparación entre los tres tipos de interacción electrón-materia en función del tamaño del parámetro de impacto clásico b relativo al radio clásico de átomos del medio absorbente a . [Podgoršak, 2006]

1. Interacción mediante fuerza Coulomb con el campo eléctrico nuclear (colisión radiativa o bremsstrahlung) para $b \ll a$.
2. Interacción mediante fuerza Coulomb con electrón orbital (colisión fuerte) para $b \approx a$.

3. Interacción mediante fuerza Coulomb con electrón orbital (colisión débil) para $b \gg a$.

El electrón proyectil al colisionar con electrones orbitales de un átomo, transfiere parte de su energía cinética resultando en ionización o excitación del mismo. Por otro lado, al experimentar una colisión de tipo radiativa (bremsstrahlung) el electrón pierde energía emitiendo fotones. Producto de estas interacciones, el electrón pierde energía cinética al atravesar el medio hasta detenerse (termalizar) y ser absorbido por alguna especie química.

Poder de frenado

El parámetro que se define para describir la pérdida gradual promedio de energía de una partícula cargada al penetrar un medio específico se lo llama *poder de frenado*, S . Y se lo define como

$$S = -\frac{dE}{d\ell}$$

Donde dE es la energía cinética perdida por el proyectil y $d\ell$ la distancia recorrida en el medio. Se lo define positivo, por ello el signo negativo que acompaña la tasa de cambio. El poder de frenado se lo clasifica en dos categorías

- Poder de Frenado de colisión (ionización) S_{col} : pérdida de energía por interacción con electrones orbitales. Excitación o ionización de electrones ligados a átomos o moléculas del material.
- Poder de Frenado radiativo S_{rad} : pérdida de energía por interacción con núcleo atómico. Emisión de fotones por medio de radiación de frenado (bremsstrahlung).

El poder de frenado total S_{tot} para partículas cargadas es igual a la suma de las dos contribuciones: colisión y radiativa.

$$S_{tot} = S_{rad} + S_{col}$$

Para el caso de electrones, estos sufren muchas deflexiones de su trayectoria original producto de su baja masa, lo que resulta en que ambos términos contribuyen al poder de frenado total.

En el rango de energías por debajo de los 10 MeV el poder de frenado de colisión es dominante $S_{col} > S_{rad}$, sin embargo a altas energías la situación se invierte $S_{rad} > S_{col}$. La intersección de los dos modos ocurre a una *energía cinética crítica* $(E_K)_{crit}$ para la cual el poder de frenado de colisión es igual al radiativo $S_{col} = S_{rad}$ para un dado medio absorbente con número atómico Z . Esta energía cinética crítica puede estimarse de la siguiente relación empírica

$$(E_K)_{crit} \cong \frac{800 \text{ MeV}}{Z}$$

Para el agua se tiene que $(E_K)_{crit} \cong 105 \text{ MeV}$. Para medios absorbentes con alto Z el efecto radiativo domina a partir de una menor energía cinética comparado a medios con bajo Z . El cociente entre el poder de frenado de colisión y radiativo puede estimarse a partir de la siguiente fórmula empírica

$$\frac{S_{col}}{S_{rad}} = \frac{(E_K)_{crit}}{E_K}$$

En este trabajo se utilizó un haz de electrones con energía nominal de 12 MeV y como medio absorbente la sangre ($\rho = 1,055 \text{ g/cm}^3$) que puede bien ser modelizada como agua ya que es la molécula más abundante y solo se diferencia en un 5,5% en densidad. Tenemos entonces que la relación entre el poder de frenado de colisión y radiativo es $S_{col}/S_{rad} = 8,75$.

En la Figura 1.3 se muestra el poder de frenado másico total, radiativo y de colisión para electrones en distintos medios. El poder de frenado másico se lo define como el poder de frenado dividido la densidad del medio, S/ρ .

La diferencia en el poder de frenado radiativo, para electrones con la misma energía cinética, en distintos medios se debe al número atómico Z del material absorbente. Aquellos elementos con número atómico alto como el Plomo ($Z = 82$) poseen un núcleo de mayor tamaño que elementos de número atómico bajo como el Oxígeno ($Z = 8$) presente en el agua, por lo cual generan un campo eléctrico más intenso y aumenta la probabilidad de una interacción radiativa, bremsstrahlung. Por otra parte, las diferencias en el poder de frenado de colisión se deben a las energías de ligadura de los electrones a los átomos de cada elemento. Los electrones de la capa L del Plomo tienen una energía de ligadura de 1.5 keV , mientras que la energía de ionización de la molécula de agua es de apenas unos 18 eV .

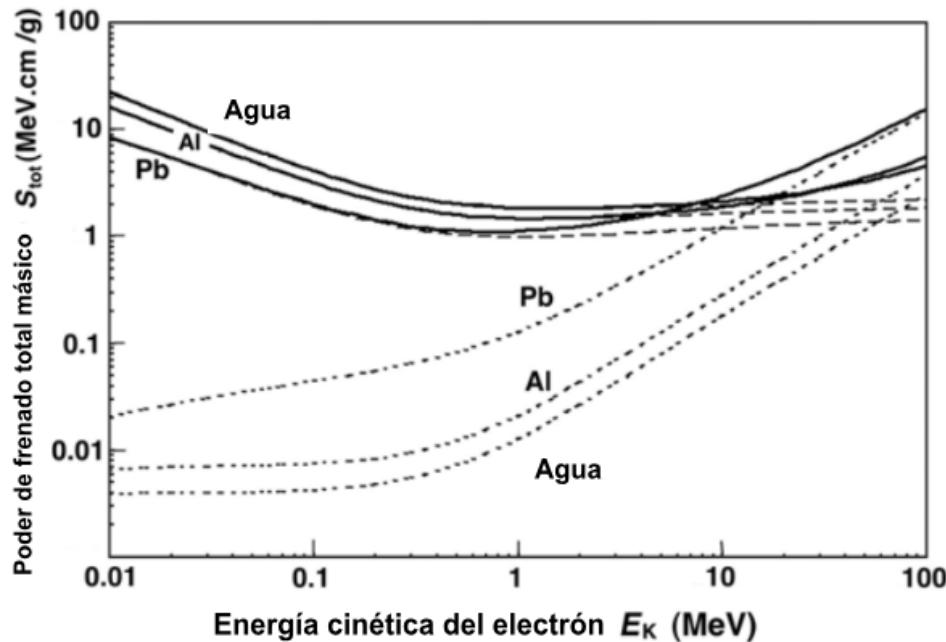


Figura 1.3: Poder de frenado másico para electrones en agua, aluminio y plomo. En líneas sólidas el poder de frenado total, en líneas punteadas el poder de frenado radiativo y en linea de trazos el poder de frenado de colisión. Datos obtenidos del NIST. [Podgoršak, 2006]

Poder de frenado restringido (LET)

El poder de frenado restringido (LET) se lo define como la cantidad de energía depositada en el medio por unidad de camino recorrido de la partícula incidente. En la Figura 1.4 se muestra una comparación entre tipos de radiación con bajo y alto LET.

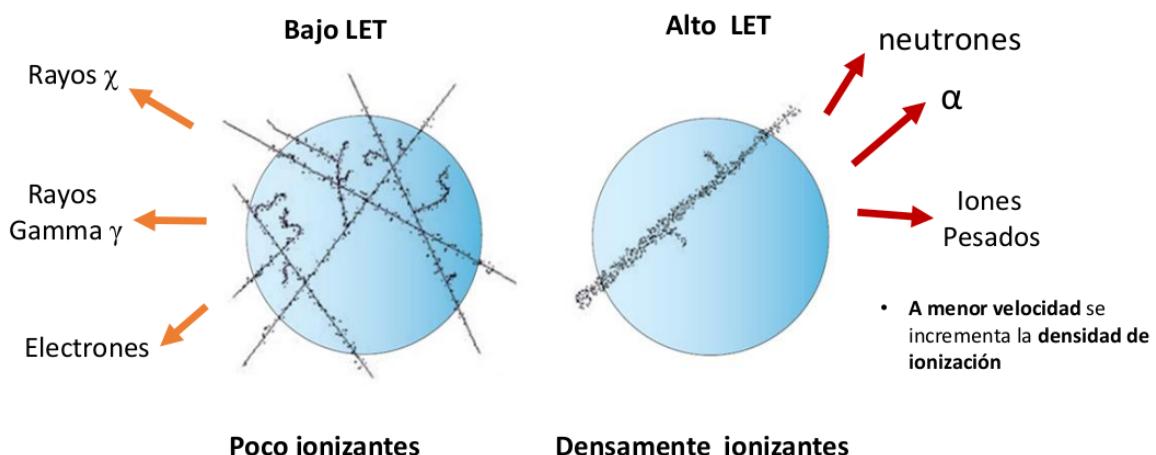


Figura 1.4: Comparación entre tipos de radiación poco ionizantes y densamente ionizantes. Su diferencia radica en la deposición local de energía en las vecindades de la trayectoria de la partícula.

En radiodosimetría el objeto de interés es determinar la energía transferida a una región localizada de interés, sin embargo, utilizar S_{col} para este propósito podría sobreestimar la dosis ya que S_{col} incorpora colisiones para las cuales la energía transferida a partículas secundarias es lo suficientemente alta para que estas se alejen una distancia significativa del recorrido de la partícula primaria, escapando de la región de interés. Es por esto que es importante definir el concepto de *poder de frenado restringido* L_Δ de modo tal de excluir la contribución de partículas secundarias con energía mayor a una energía umbral Δ .

La elección del valor umbral Δ depende del problema a tratar. En mediciones dosimétricas involucrando cámaras de ionización con una separación de 2 mm de aire entre los electrodos un valor típico es $\Delta = 10 \text{ keV}$, ya que el rango recorrido por un electrón de 10 keV en aire es del orden de 2 mm. En la Figura 1.5 se muestra la discrepancia entre el poder de frenado de colisión con el poder de frenado restringido con energía umbral $\Delta = 10 \text{ keV}$ y $\Delta = 100 \text{ keV}$ para electrones con distinta energía cinética en un medio de carbono.

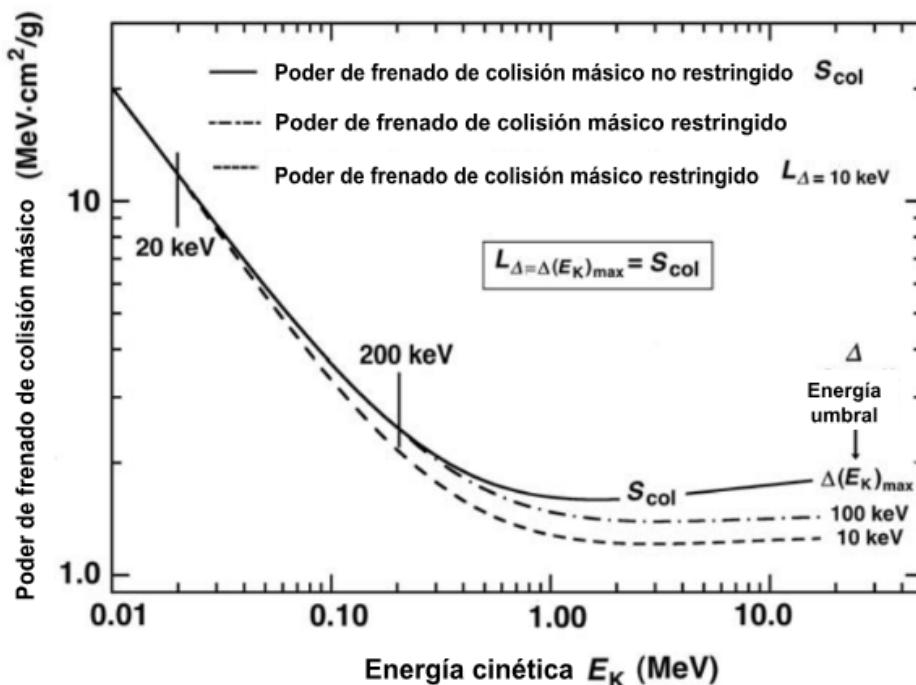


Figura 1.5: Comparación entre el poder de frenado de colisión másico restringido (para energía umbral $\Delta = 10 \text{ keV}$ y $\Delta = 100 \text{ keV}$) y el poder de frenado de colisión másico para electrones en un medio de carbono para distintas energías cinéticas. [Podgoršak, 2006]

1.1.3. Haces de Rayos X

Los fotones al ser partículas sin carga no interactúan mediante fuerza electroestática con los electrones y núcleos del medio. Existen diferentes mecanismos de interacción en los que hay involucrados fotones. Las tres interacciones fotón-materia de mayor importancia para la física radiológica son:

- Efecto fotoeléctrico: el fotón incidente entrega la totalidad de su energía a un electrón ligado al átomo o molécula, éste electrón eyectado puede generar ionizaciones secundarias dependiendo su energía cinética.
- Efecto Compton: el fotón incidente entrega parte de su energía a un electrón del medio débilmente ligado y este último es eyectado; el fotón, ahora de menor energía, es dispersado de su trayectoria original.
- Producción de pares: el fotón interactúa con un núcleo y da lugar a un par electrón-positrón. El positrón eyectado al encontrarse con un electrón del medio desencadena un proceso de aniquilación en el que se generan dos fotones en direcciones opuestas.

En la Figura 1.6 se ilustra cada interacción fotón-materia descripta dentro de una región de interés.

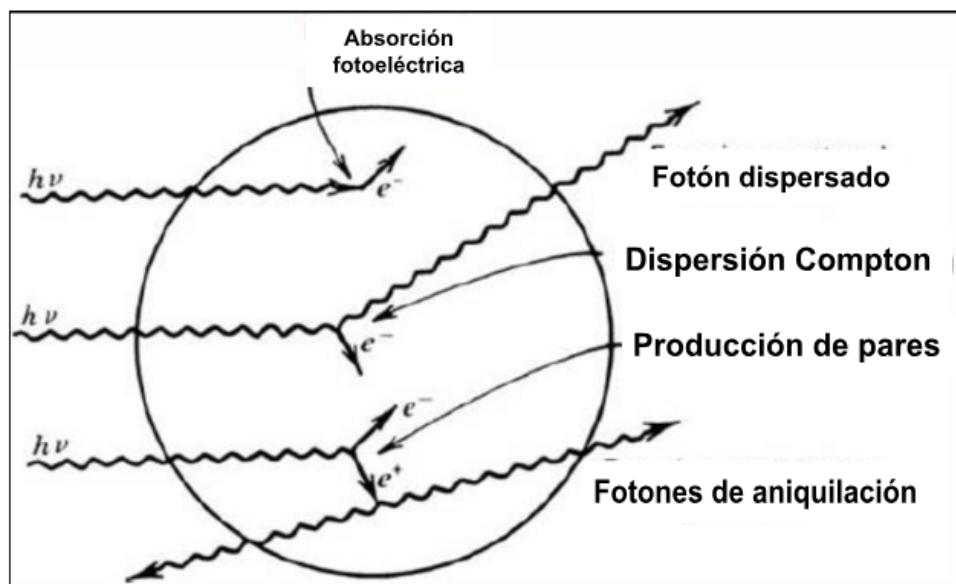


Figura 1.6: Esquema ilustrativo de las distintas interacciones fotón materia más relevantes para la física radiológica. [Knoll, 2010]

La probabilidad de una interacción particular depende tanto de la energía del fotón como del número atómico Z del medio absorbente. En la Figura 1.7 se muestra la importancia relativa de cada efecto en función del número atómico Z del medio absorbente y la energía E del fotón incidente.

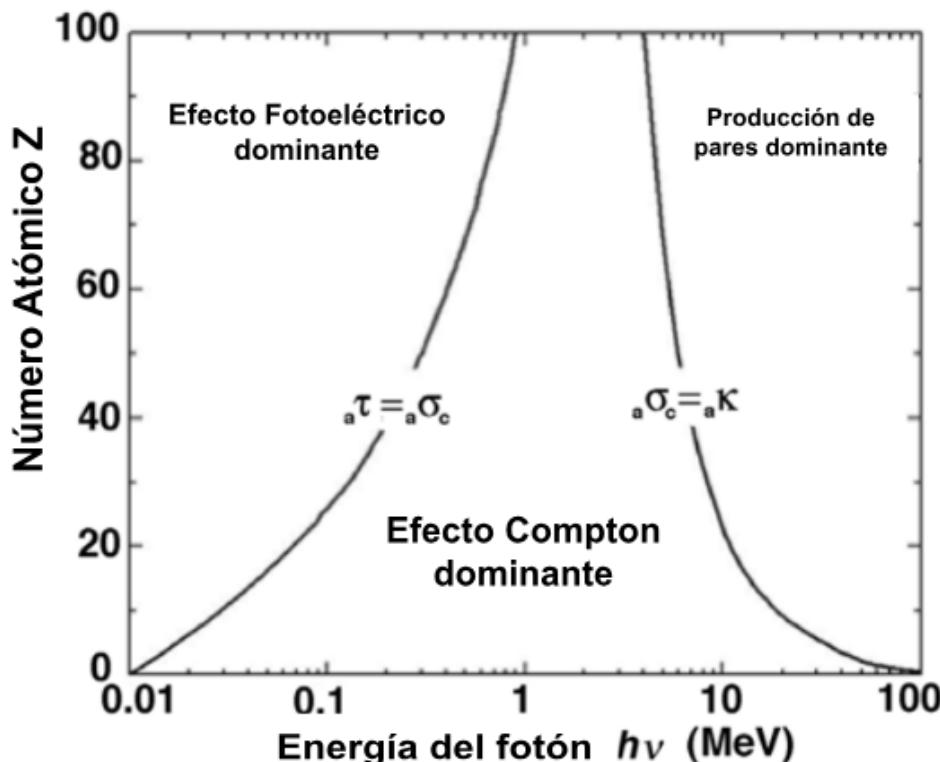


Figura 1.7: Importancia relativa de los tres tipos de interacción predominantes. Las curvas muestran valores de Z y E para los cuales los efectos son igualmente probables. [Podgoršak, 2006]

En este trabajo se utilizaron haces de fotones con energía de 15 MeV y el material absorbente fue la sangre entera. Debido a que los átomos más abundantes del material absorbente son de Z bajo como por ejemplo carbono ($Z = 6$), hidrógeno ($Z = 1$), oxígeno ($Z = 8$); en este caso la interacción dominante es el efecto Compton.

En la Figura 1.8 se muestra la fracción de energía del fotón transferida al electrón en una interacción Compton. Para un fotón con energía $h\nu = 15$ MeV, en promedio entrega cerca del 70% de su energía al electrón en una interacción Compton y la máxima energía transferible es cercana al 100%. Para nuestro caso el electrón eyectado por efecto Compton tendrá en promedio una energía cinética de 10 MeV.

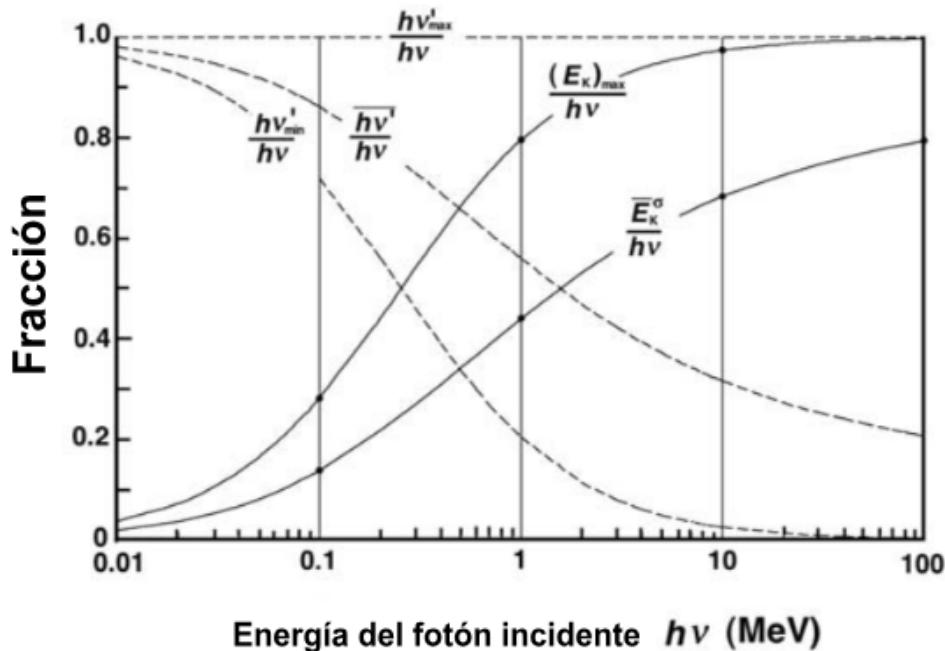


Figura 1.8: En una interacción Compton, fracción de energía del fotón $h\nu$ transferida al electrón. Donde $(E_k)_{max}$ es la energía cinética máxima y \bar{E}_k^σ la energía cinética promedio del electrón. [Podgoršak, 2006]

1.2. Dosimetría

1.2.1. Dosis absorbida

La dosis absorbida es la cantidad física básica de dosimetría. Cualquier efecto atribuible a la radiación requiere un dosis distinta de cero. Su definición es basada en una cantidad estocástica llamada *energía impartida*, ϵ , definida como

$$\epsilon = (R_{in})_u - (R_{out})_u + (R_{in})_c - (R_{out})_c + \Sigma Q$$

Donde $(R_{in})_u$ es la energía radiante de todas las partículas no cargadas que ingresan a un volumen de interés V , $(R_{in})_c$ lo mismo pero para partículas cargadas. Y $(R_{out})_u$ es la energía radiante de todas las partículas no cargadas que abandonan dicho volumen, análogamente para partículas cargadas $(R_{out})_c$. El término ΣQ es la energía derivada de masa en reposo en el volumen V , asume signo positivo si se convierte masa en energía y negativo viceversa. En la Figura 1.9 se ilustra un ejemplo de interacción de un fotón incidente de energía $h\nu_1$ sobre un volumen de interés V .

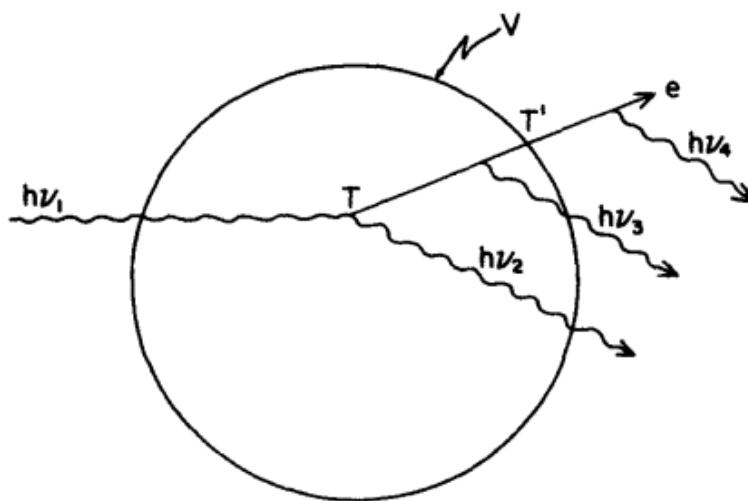


Figura 1.9: Esquema ilustrativo de volumen de interés donde calcular la dosis impartida al: ingresa un fotón, produce una interacción Compton, el electrón eyectado genera un fotón bremsstrahlung por interacción con un núcleo dentro del volumen, abandona el volumen y genera otro fotón bremsstrahlung. [Attix, 1986]

Para el caso de ejemplificado en la Figura 1.9 tenemos que un electrón eyectado por efecto Compton, dentro del volumen V , pierde parte de su energía por medio de bremsstrahlung antes de escapar del volumen con energía cinética T' . Entonces cada término para este caso sería

$$(R_{in})_u = h\nu_1, \quad (R_{in})_c = 0$$

$$(R_{out})_u = h\nu_2 + h\nu_3, \quad (R_{out})_c = T'$$

$$\Sigma Q = 0$$

Por lo tanto, la energía impartida en el volumen V es de la forma

$$\epsilon = h\nu_1 - (h\nu_2 + h\nu_3 + T')$$

Comprendido el concepto de energía impartida, podemos definir la *dosis absorbida* en un punto P como

$$D = \frac{d\epsilon}{dm} \quad , \quad [D] = J/Kg = Gy$$

donde $d\epsilon$ es el valor de expectación de energía impartida en un volumen infinitesimal dv centrándolo en P y de masa dm durante cierto intervalo de tiempo.

El objetivo principal de la *dosimetría referenciada* es poder determinar experimentalmente la dosis absorbida en un medio a distintas profundidades al incidir un haz de radiación ionizante. Un haz de radiación ionizante particular se lo caracteriza (según protocolo TRS-398, siendo el estándar a la fecha de realización de este trabajo) en función de su curva de dosis en profundidad en agua y se le define una *calidad de radiación*. La palabra referenciada se debe a que esta dosis absorbida se calcula utilizando una calidad de radiación patrón, usualmente un haz de fotones gamma emitido por una fuente de ^{60}Co . Utilizado como patrón debido al espectro de emisión de este radioisótopo con dos picos cercanos muy pronunciados a las energías de 1,17 y 1,33 MeV.

A fin de poder determinar experimentalmente la dosis absorbida en un medio, se define la magnitud *exposición* que describiremos a continuación.

1.2.2. Exposición

La exposición, X , es el cociente entre el valor absoluto de la carga total dQ de los iones de un signo producidos en aire cuando todos los electrones liberados por fotones en aire de masa dm son detenidos.

$$X = \frac{dQ}{dm}$$

La ionización proveniente de fotones bremsstrahlung emitidos por electrones no debe incluirse en dQ . Lo mismo para las pequeñas pérdidas radiativas de energía cinética producidas por aniquilación de positrones. Para un volumen macroscópico la exposición promedio es igual a

$$X = \frac{Q}{m}$$

La exposición es el equivalente en ionización del Kerma de colisión K_c en aire para fotones. El Kerma de colisión K_c es el valor de expectación de energía transferida a partículas cargadas (electrones y positrones) que es expendedida en ionización de átomos/moléculas del medio por unidad de masa. Ver Anexo 5.2.

Las cantidades K_c y X se relacionan proporcionalmente a través de la *energía promedio expendedida en un gas para formar un par iónico*, llamado valor \bar{W} . Este valor se lo asume

constante en aire para fotones por encima de un par de keV valiendo $\overline{W}_{aire} = 33,97 \text{ eV}/i.p^1$. Convirtiendo unidades de eV a J y dividiendo por la carga del electrón se tiene de forma más conveniente $(\overline{W}_{aire}/e) = 33,97 \text{ J/C}$, ver Anexo 5.3. Así entonces si expresamos $[Q] = \text{C}, [m] = \text{Kg}$ tenemos que

$$(K_c)_{aire} = \left(\frac{\overline{W}_{aire}}{e} \right) X = 33,97 \frac{Q}{m} \text{ Gy} \quad (1.1)$$

A fin de poder relacionar el Kerma de colisión con la dosis absorbida en el medio es necesario introducir el concepto de *equilibrio electrónico*.

1.2.3. Equilibrio Electrónico

En un volumen v existe equilibrio electrónico (CPE) si cada partícula cargada de un cierto tipo y energía abandonando el volumen es reemplazada por un partícula idéntica con la misma energía entrando al mismo. Consideremos un volumen homogéneo V sobre el que incide un campo de radiación indirectamente ionizante uniforme y dentro de él un volumen pequeño v , ver Figura 1.10. Para satisfacer la condición de equilibrio electrónico en este caso, la separación entre las fronteras del volumen interior v y el volumen V deben ser de al menos la máxima distancia de penetración de cualquier partícula cargada secundaria.

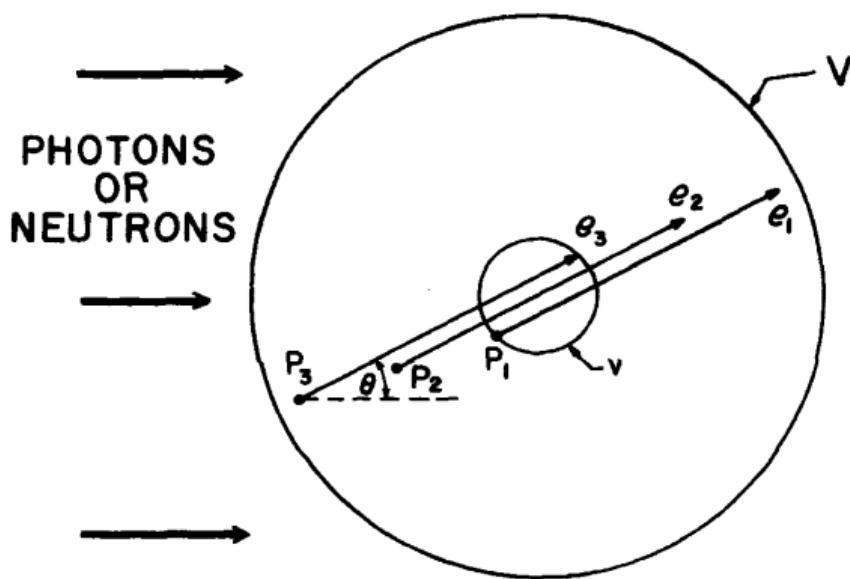


Figura 1.10: Ilustración de equilibrio electrónico para el caso de radiación indirectamente ionizante. [Attix, 1986]

¹i.p = par iónico

En la Figura 1.10 la partícula cargada secundaria e_1 es generada en el punto P_1 dentro del volumen v y escapa del mismo con energía $\frac{2}{3}E$, siendo E su energía inicial. Una segunda partícula e_2 es generada en un punto P_2 fuera del volumen, ingresa a v con energía $\frac{2}{3}E$ y escapa de él con energía $\frac{1}{3}E$. Una tercera partícula e_3 es generada en el punto P_3 fuera del volumen, ingresa a v con energía $\frac{1}{3}E$ y se detiene en él. De esta manera, la energía depositada en v por las 3 partículas es igual a la energía que hubiera depositado e_1 si su trayectoria hubiera sido completamente contenida dentro de este volumen. Además, si el volumen v es lo suficientemente pequeño puede garantizarse que todo fotón generado dentro de él por pérdida radiativa escape y deposite su energía fuera de él. En el límite no estocástico, es decir dado un gran número de eventos, puede asumirse que toda pérdida radiativa dentro del volumen es compensada con lo mismo fuera de él.

Bajo estas condiciones se tiene que para equilibrio electrónico se cumple que la dosis es igual al Kerma de colisión, es decir

$$D \stackrel{CPE}{=} K_c \quad (1.2)$$

De forma práctica, si las siguientes condiciones se satisfacen a lo largo de V existirá equilibrio electrónico para el volumen v :

- La composición atómica del medio es homogénea.
- La densidad del medio es homogénea.
- Existe un campo uniforme de radiación indirectamente ionizante.
- Ningún campo inhomogéneo eléctrico o magnético está presente.

Si asumimos que existe equilibrio electrónico en un medio, sea por ejemplo un gas, podemos medir experimentalmente la exposición y relacionarla con la dosis absorbida a través del Kerma de colisión. No obstante, el objetivo de la dosimetría referenciada es calcular la dosis absorbida en agua donde no puede medirse directamente la exposición. Sin embargo, puede determinarse la

dosis de forma indirecta utilizando una *cámara de ionización* y empleando teoría de cavidades, la cual se detalla a continuación.

1.2.4. Teoría de Cavidades

La teoría de cavidades relaciona la dosis absorbida en un medio sensible (cavidad) con la dosis absorbida en el medio que lo rodea. El tamaño de la cavidad es definido en comparación con el rango de las partículas que conforman el campo de radiación incidente. Ver Figura 1.11.

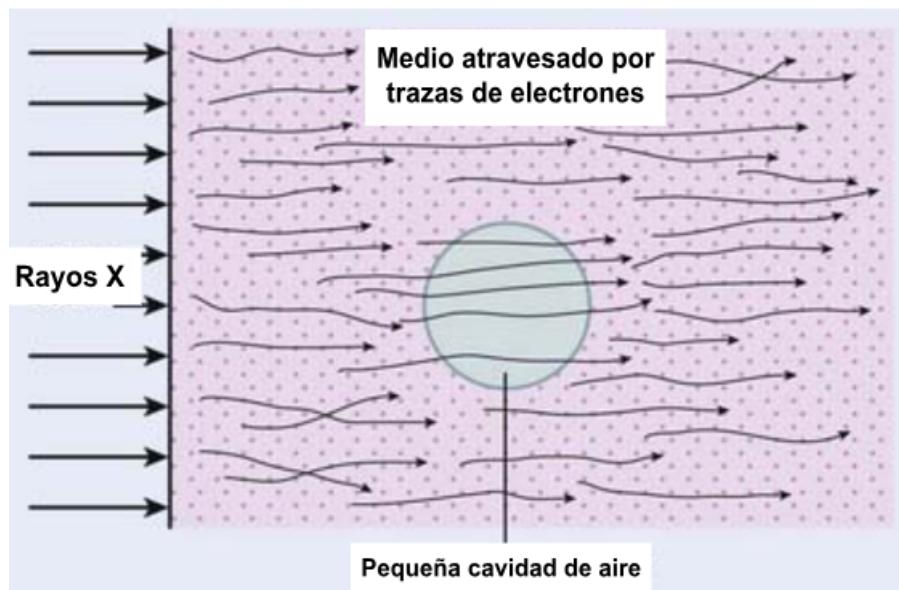


Figura 1.11: Esquema ilustrativo de cavidad embebida en un medio. [Johns et al., 1983]

El modelo teórico más sencillo y en la práctica mayormente utilizado es el modelo Bragg-Gray que consiste en lo siguiente:

- Existe equilibrio electrónico (CPE).
- Todos los electrones que atraviesan la cavidad son generados en el medio que la rodea.
- La cavidad es lo suficientemente pequeña para que su presencia no perturbe el flujo² de electrones en el medio.

²o fluencia, ver Anexo 5.1

- La dosis absorbida en la cavidad es depositada únicamente por partículas cargadas atravesándolo.

Esta teoría establece que el cociente entre la dosis absorbida en la cavidad y el medio circundante es igual al cociente de los poderes de frenado de colisión másico promediado en el espectro de electrones mono-energéticos que los atraviesan. Sean w y g dos medios, entonces la relación dosis absorbida entre ellos según el modelo Bragg-Gray es

$$\frac{D_w}{D_g} = \frac{(\bar{S}_{col}/\rho)_w}{(\bar{S}_{col}/\rho)_g} \quad (1.3)$$

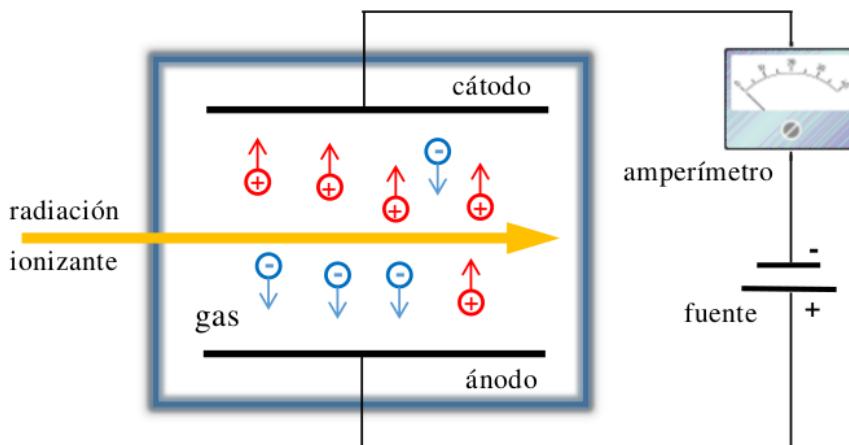


Figura 1.12: Dosímetro empleando cámara de ionización para la medición indirecta de la dosis absorbida. [Veronica Belen Tesaro, 2022]

Si el medio g es un gas que ocupa la cavidad y se genera en él una carga Q de iones de un signo producidos por la traza de electrones, podemos recolectar estas cargas utilizando una cámara de ionización que nos permita registrar una corriente, ver Figura 1.12. Entonces la dosis absorbida D_g puede expresarse en grays a partir de las ecuaciones 1.1 y 1.2 como

$$D_g = \frac{Q}{m} \left(\frac{\bar{W}}{e} \right)_g \quad (1.4)$$

Podemos reemplazar 1.4 en 1.3 y obtenemos una forma de determinar la dosis absorbida en el medio g a partir de conocer la relación entre los poderes de frenado másico promedio y medir experimentalmente la exposición en la cámara de ionización.

$$D_w = \frac{Q}{m} \left(\frac{\bar{W}}{e} \right)_g \frac{(\bar{S}_{col}/\rho)_w}{(\bar{S}_{col}/\rho)_g} \quad (1.5)$$

En este trabajo se utilizó mediciones experimentales de la dosis absorbida en agua a distintas profundidades para un haz de electrones con energía nominal de 12 MeV y uno de fotones con energía nominal de 15 MeV.

1.3. Radiobiología

La Radiobiología es una rama de la ciencia que estudia el efecto de las radiaciones ionizantes sobre el tejido biológico y organismos vivos. Busca explicar las respuestas moleculares, celulares y fisiológicas de la exposición a la radiación. Todo lo que esté vivo está formado por protoplasma que consiste en una solución acuosa de compuestos orgánicos e inorgánicos. La unidad más pequeña de protoplasma capaz de existencia independiente es la célula.

La célula contiene compuestos inorgánicos como agua y minerales; y a su vez compuestos orgánicos como proteínas, carbohidratos y lípidos todos ellos delimitados por una membrana celular que la divide del medio en que el que se encuentra. Los dos constituyentes principales de una célula son el citoplasma, que involucra toda la función metabólica de la célula, y el núcleo que contiene la información genética (ADN). En particular los glóbulos rojos son células que no poseen núcleo.

En escala de tiempos característicos, los efectos físicos, es decir la interacción entre radiación y átomos o moléculas, ocurren en el orden de ($\sim 10^{-15} \text{ s}$). Luego le siguen efectos físico-químicos como disociación de moléculas ($< 10^{-12} \text{ s}$) y reacciones químicas entre estas especies reactivas generadas y moléculas del medio ($< 10^{-6} \text{ s}$). Estas reacciones químicas pueden dar lugar a efectos biológicos como daños a nivel del núcleo celular, organelas o membrana celular. Si los mecanismos de reparación celular no pueden remediar el daño causado por la radiación ionizante la célula puede iniciar una muerte programada llamada *apoptosis celular* o continuar su existencia con alguna posible alteración genética. El daño biológico que produce un tipo de radiación se clasifica en dos categorías. Daños por

- Acción directa

La radiación interactúa con blancos críticos en la célula como el núcleo o mitocondria. Los átomos del blanco pueden ser ionizados o excitados produciendo una cadena de eventos físicos y químicos que produce daño biológico. Este proceso es dominante en radiaciones de alto LET.

- Acción indirecta

La radiación interactúa con moléculas dentro de la célula, principalmente agua ya que conforma el 80 % de la célula, estas moléculas se disocian y forman especies químicas

altamente reactivas (radiolisis del agua) que mediante difusión pueden dañar blancos críticos de la célula. Entre las especies reactivas posibles se encuentran radicales libres como el radical hidroxilo OH y compuestos químicos como el peróxido de hidrógeno H_2O_2 especies altamente corrosivas, estas especies se las conoce como *especies reactivas del oxígeno (ROS)*. Estas especies rompen enlaces químicos y así producen daño biológico. Aproximadamente dos tercios del daño biológico por radiaciones de bajo LET es generado por este mecanismo.

A continuación se describen los pasos involucrados en producir daño biológico mediante acción indirecta con rayos X

1. Fotón primario interactúa con un átomo o molécula mediante efecto fotoeléctrico, Compton o producción de pares y produce un electrón libre de alta energía.
2. El electrón al atravesar el citoplasma de la célula ioniza moléculas de agua, estas se disocian y al recombinarse forman especies reactivas (ROS).
3. Los radicales libres pueden producir daños rompiendo enlaces químicos de distintas estructuras de la célula. Por ejemplo su ADN.

En particular, los glóbulos rojos son células sin núcleo por lo cual la radiación reducirá su tiempo de vida media a causa de producir lesiones sobre la membrana. Estas alteraciones de membrana como la formación de poros y vesículas reducen la deformabilidad y comprometen la integridad general los glóbulos rojos. [Maria Candela Della Rosa, 2025]

1.4. Características de la sangre

1.4.1. Composición de la sangre

La sangre está compuesta por una parte líquida y elementos formes en suspensión. La parte líquida, conocido como *plasma sanguíneo*, representa aproximadamente el 55 % del volumen total de la sangre. El volumen de sangre restante lo conforman principalmente glóbulos rojos y en menor medida glóbulos blancos y plaquetas. Los glóbulos rojos son los responsables del intercambio y transporte de gases, vitales para la oxigenación de tejidos. Los glóbulos blancos son una clasificación para diversas células del sistema inmunitario: neutrófilos, linfocitos, monocitos, entre otros. Por último, las plaquetas son células que juegan un papel crucial en la coagulación y cicatrización de heridas. En la Figura 1.13 se muestra un esquema de la conformación de la sangre .

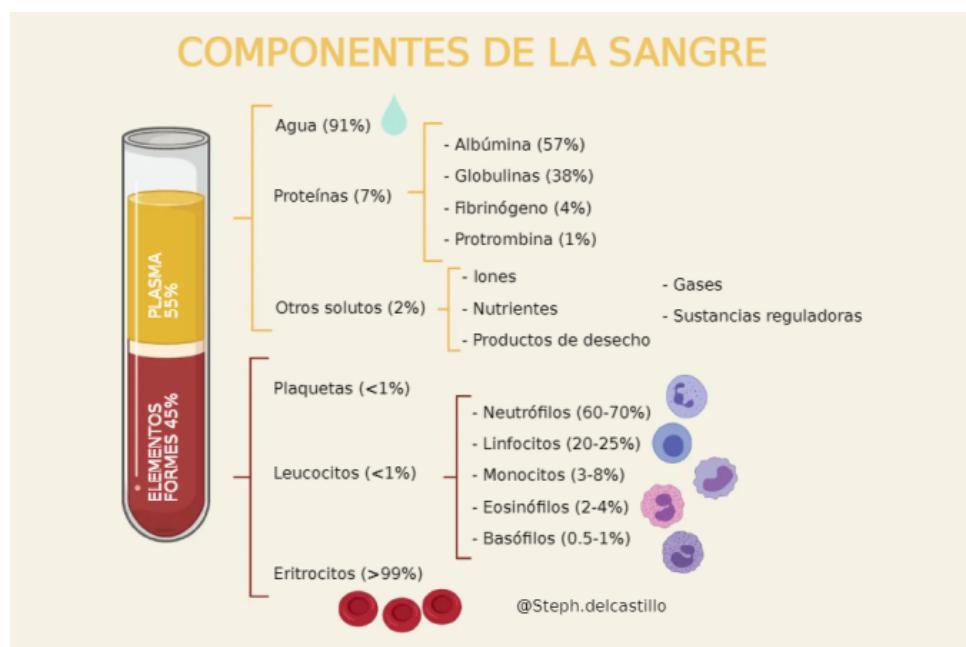


Figura 1.13: Composición de la sangre ; proporciones normales en el organismo.

1.4.2. Globulos Rojos humanos

Los glóbulos rojos, también llamados eritrocitos, son las células más numerosas en la sangre, en 1 ml de sangre se han entre 4 y 5 millones de eritrocitos. Su función es la de proteger y transportar la hemoglobina, que es la responsable del intercambio de oxígeno de los tejidos.

Gracias a su elevada capacidad de deformación pueden atravesar microcapilares hasta diez veces menores que su diámetro y garantizar la llegada del oxígeno a todo el organismo. Su forma es de disco bicóncavo, anucleado, de $7,5 \mu m$ de diámetro, $2 \mu m$ de espesor en la periferia, $1 \mu m$ en su parte central (ver Figura 1.14). Esta geometría le permite al eritrocito tener una gran superficie, de aproximadamente $140 \mu m^2$, en relación a su volumen, de $90 \mu m^3$. De este modo se favorece el intercambio de oxígeno entre el interior del eritrocito y el plasma sanguíneo. Su tiempo de vida medio en circulación es de 120 a 140 días, en el cual recorre una distancia de 600 km en el torrente sanguíneo y es sometido 500 mil veces a turbulencias cardíacas.

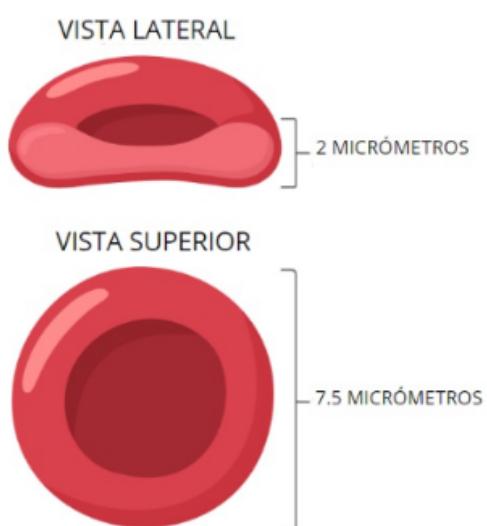


Figura 1.14: Morfología normal de un eritrocito humano, forma bicóncava.

Si bien la membrana del eritrocito constituye el 1% del peso del mismo, esta desempeña un papel primordial en las propiedades mecánicas del glóbulo rojo. Similar a otras membranas plasmáticas, está compuesta principalmente de lípidos y proteínas organizados en una bicapa fosfolipídica, que constituye aproximadamente el 50% de su masa (Ver Figura 1.15). Actúan como barreras selectivas que mantienen la composición interna de las células mediante el control del transporte activo y pasivo de moléculas. La composición de la membrana está constituida por un 42% lípidos, 50% proteínas, 8% hidratos de carbono.

Los daños producidos sobre la membrana del eritrocito por el efecto de la radiación desencadena un proceso llamado *vesiculación* en el que los eritrocitos liberan vesículas formadas por el desprendimiento de fosfolípidos de la membrana plasmática y el citoesqueleto. Estas vesículas desempeñan un papel esencial en la eliminación de componentes celulares dañados, de esta ma-

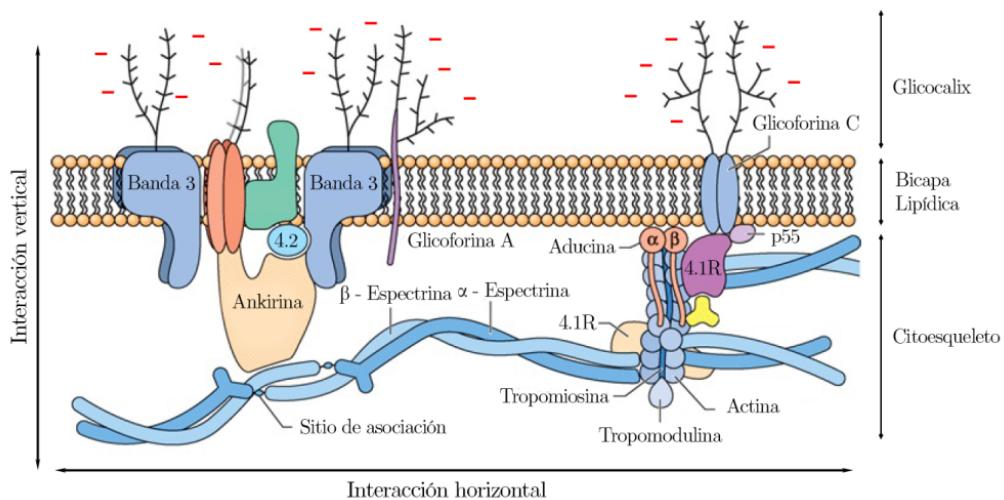


Figura 1.15: Diagrama de la membrana eritrocitaria donde puede apreciarse el glicocalix, la bicapa lipídica y el citoesqueleto. [Ezequiel Lizandro Estrada, 2021]

nera evitando ser eliminados por el bazo. A su vez, estas vesículas actúan como vehículos activos de comunicación intercelular, ya que almacenan y transportan proteínas, lípidos y moléculas señalizadoras. La formación y liberación de vesículas da lugar a alteraciones morfológicas entre las que se destacan particularmente

- Equinocitosis: Transformación morfológica en el que los eritrocitos pasan de ser discos bicóncavos lisos a discos más redondeados con espículas en su superficie. Esta morfología afecta la capacidad de los glóbulos para fluir a través de secciones estrechas de la circulación. El daño es remediable bajo ciertas condiciones.
- Esferoequinocitosis: Los glóbulos se convierten en una esfera con espículas. El daño es irreversible.

En la Figura 1.16 se comparan estas distintas alteraciones morfológicas de los eritrocitos. Estudios han demostrado que tanto la radiación gamma como rayos X aumentan la cantidad de vesículas [Tan et al., 2020].

1.4.3. Agregación eritrocitaria

A escala microscópica, los glóbulos rojos estáticos poseen una característica única de auto ensamblaje (agregación) en la que se forman simples agregados cara a cara similar a una pila de

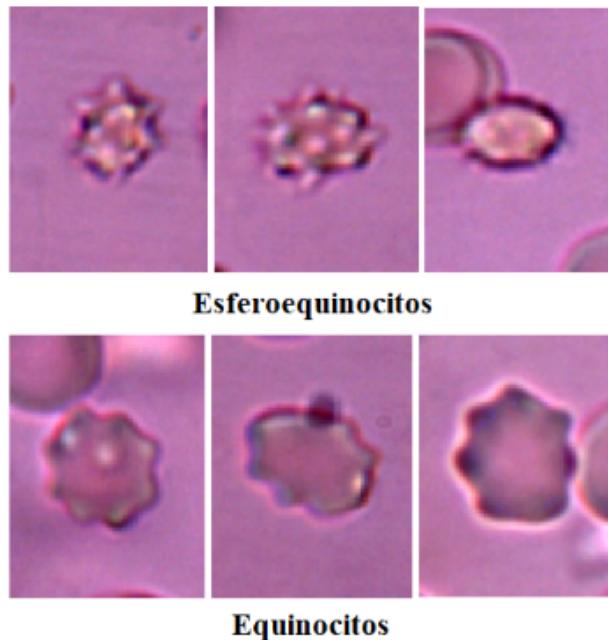
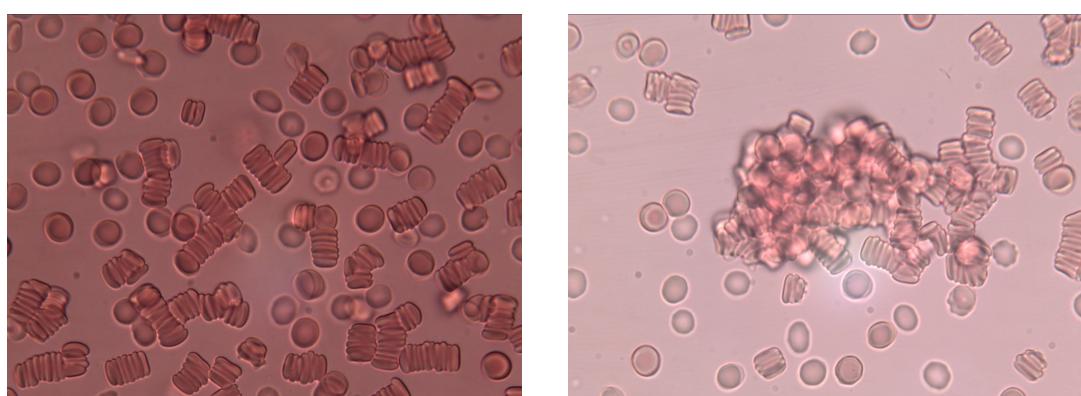


Figura 1.16: Comparación de equinocitos con esferoequinocitos mediante imágenes tomadas con microscopio óptico [Maria Candela Della Rosa, 2025].

monedas, llamados *rouleaux*. Existen además agregados anormales en los que se forman complejos ensambles tridimensionales, llamados *agregados globulares*. En la Figura 1.17 se muestra una comparación entre estos dos tipos de arreglos. La agregación eritrocitaria es producida por la presencia de macromoléculas plasmáticas en la sangre, principalmente fibrinógeno, y es reversible sometiendo a los glóbulos en ambientes de alta tensión de corte. El estudio de la agregación eritrocitaria es de actual interés clínico y científico. Los trabajos realizados en los últimos años se han enfocado en estudiar los mecanismos de agregación y la importancia de la agregación de glóbulos rojos *in vivo* por su papel determinante en el flujo sanguíneo.



(a) Imagen donde se observan varios agregados simples cara a cara (*rouleaux*).

(b) Imagen donde se observa una agregación compleja anormal (*agregado globular*).

Figura 1.17: Comparación de agregados formados por glóbulos rojos en la sangre.

Capítulo 2

Materiales y Métodos

En este capítulo detallaremos los materiales empleados durante la realización de esta Tesina y los procedimientos llevados acabo, procurando en todo momento resguardar la integridad física de las personas involucradas en la realización de las experiencias.

2.1. Muestras de sangre

2.1.1. Extracción

La extracción de las muestras de sangre fueron realizadas en el Hospital Provincial del Centenario en la localidad de Rosario, Santa Fé a cargo del Bioq. Especialista Germán Detarsio. La extracción se realizó durante la mañana con el donante sano, quien afirmo consentimiento en la utilización de su muestra de sangre para la realización de la experiencia, en ayunas. Se extrajo por punción venosa ,sin uso de torniquete, utilizando una jeringa de 20 mL y la muestra fue fraccionada en tubos de 4 mL con anti-coagulante EDTA. Inmediatamente luego de la extracción, se separó 0,5 mL de sangre para un análisis hematológico de la muestra, ver Figura 2.1.

El remanente de sangre fue fraccionado en tubos de 2,5 mL, ver Figura 2.2, adecuados para ser colocados en el dispositivo de irradiación. La etiqueta utilizada para cada muestra irradiada fue la siguiente, se dispone primero una letra dependiendo si la muestra fue irradiada con electrones (E) o rayos X (X) y luego la dosis en Gy que haya recibido. Por ejemplo, la muestra X10 sería una muestra de sangre irradiada con rayos X a una dosis de 10 Gy.

2.1.2. Bioseguridad

- Trabajar con guantes y guardapolvo. En caso de salpicar con material biológico, lavar con agua y jabón la superficie de trabajo.
- Tratar todos los residuos generados (sangre, diluciones, etc.) con agua con lavandina al 10 % antes de su descarte en la pileta.
- Tratar el material reutilizable con agua con lavandina al 10 %, enjuagar bien y dejar secar totalmente antes de guardar.

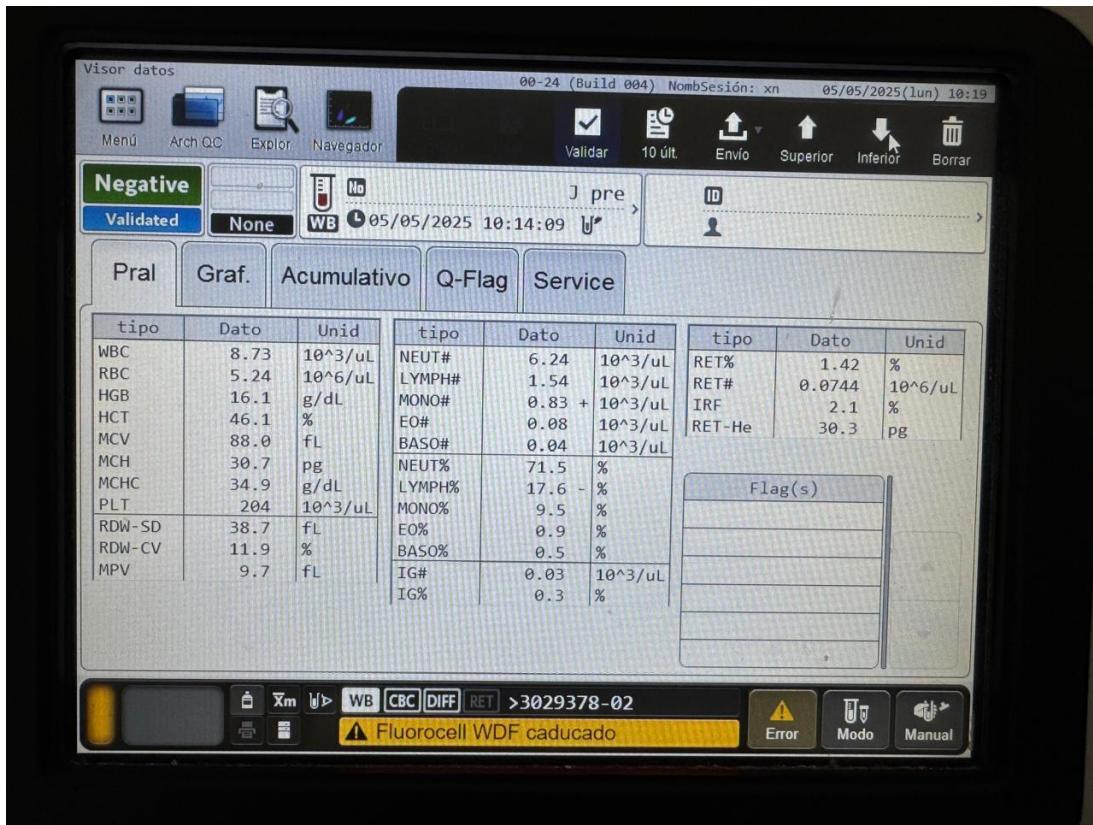


Figura 2.1: Imagen del hemograma realizado inmediatamente luego de la extracción de sangre.

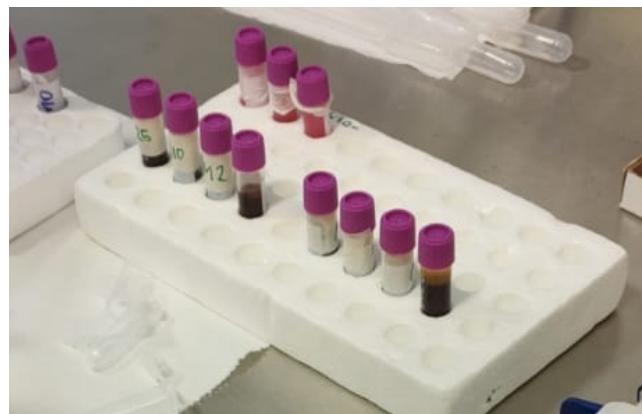


Figura 2.2: Imagen de las muestras de sangre en tubos de ensayo etiquetados y adecuados para ser irradiados.

- Descartar material plástico (tubos, tips, etc.) en bolsas rojas para residuos patológicos.

2.2. Irradiación de las muestras

2.2.1. Fuente de radiación

Para irradiar las muestras de sangre en esta experiencia se utilizó un acelerador lineal Clinac Varian IX, provisto por el Centro de Radioterapia Dr Reñe en la localidad de Rosario, Santa Fé. El clinac genera haces de radiación a partir de acelerar electrones, liberados por emisión termoiónica, utilizando campos electromagnéticos. En configuración fotones estos electrones impactan contra un blanco de alto número atómico emitiendo fotones al desacelerarse (bremsstrahlung) y luego se delimita el tamaño de campo. Para la disposición electrones el haz impacta contra una filmina dispersora para conformar el campo de radiación.

En la Figura 2.3 se muestra un esquema simplificado del acelerador lineal utilizado para la experiencia.

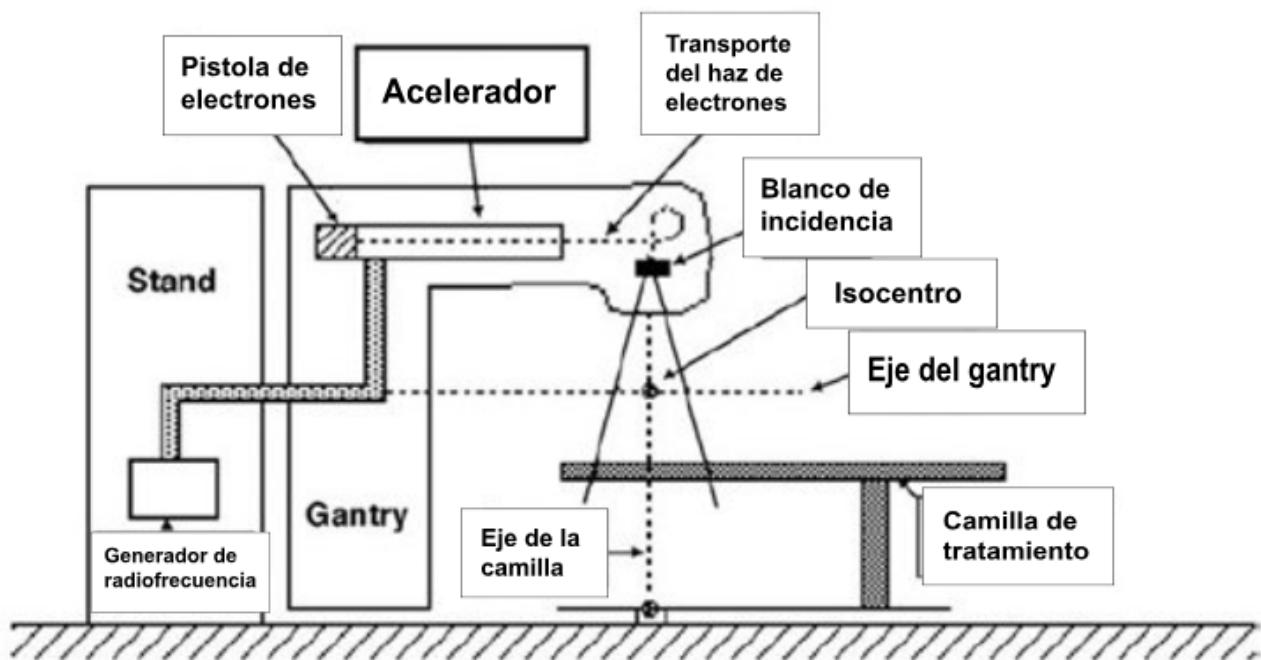


Figura 2.3: Esquema simplificado del acelerador lineal utilizado para la irradiación de muestras de sangre. Se indican componentes principales. [Podgoršak, 2006]

Las partes principales que conforman un acelerador lineal de uso clínico, en configuración fotones, son

- Generador de radiofrecuencia: Se encarga de generar un voltaje de corriente alterna de alta frecuencia (200-500 MHz) utilizando cavidades resonantes, magnetrón o klystron,

para alimentar el acelerador. Puede variarse la energía del haz de electrones modificando la potencia y frecuencia de este dispositivo.

- Pistola de electrones: Inyecta electrones generados por emisión térmica dentro del acelerador. Utiliza un filamento de tungsteno por el que pasa una corriente que eleva su temperatura por efecto Joule y los electrones emitidos son acelerados por una diferencia de potencial. La cantidad de electrones que ingresan al acelerador es regulable controlando la corriente que circula en el filamento, lo que modifica su temperatura.
- Acelerador: Consiste en una guía de onda formada por electrodos huecos sobre los cuales se aplica una tensión variable proveniente del generador de radiofrecuencia. Los electrones son acelerados al atravesar el espacio que separa los electrodos consecutivos producto de la diferencia de potencial entre ellos. La guía de onda es sometida a bajo vacío (10^{-6} mmHg) para reducir colisión con átomos durante la aceleración. Mediante imanes cuadrupolos el haz es enfocado a un diámetro de 1 mm.
- Blanco de incidencia: El haz de electrones deflectado gracias a campos magnéticos incide sobre un blanco de Tungsteno produciendo fotones al desacelerar los electrones (radiación bremsstrahlung) por su alto número atómico (74). El Tungsteno además cuenta con una alta temperatura de fusión (3422°C) lo que le permite soportar la gran cantidad de calor generada durante el bombardeo de electrones.
- Colimadores: Un colimador primario conforma el haz de fotones definiendo el máximo tamaño del campo de irradiación absorbiendo los fotones que se propagan lateralmente. Un segundo colimador se encarga de garantizar la uniformidad de fluencia del campo de irradiación absorbiendo parcialmente los fotones que atraviesan las cercanías del eje central.

El mismo acelerador lineal en configuración electrones solo se diferencia en el blanco de incidencia, utilizando un centro dispersor de electrones (scattering foil) que permite ampliar el campo de electrones que inicialmente cuenta con un tamaño de tan solo 1 mm de diámetro. La posición tanto del blanco de incidencia como del centro dispersor se lo llama *fuente*.

El sistema descripto como un todo se encuentra montado sobre un sistema mecánico llamado gantry el cual permite rotar 360° el acelerador respecto a la camilla de tratamiento. El eje de

rotación del mismo es llamado *eje del gantry*. En el extremo del acelerador, perpendicular al eje del gantry, se encuentra un colimador multihojas que permite conformar campos de radiación con distintas geometrías, este a su vez puede rotar 360° sobre su eje llamado *eje del colimador*. La intersección del eje del colimador y el eje del gantry se lo conoce como *isocentro* y es el punto de referencia de crucial importancia para un correcto posicionamiento del paciente a tratar.

El clinac cuenta con un telémetro que permite medir la distancia entre la fuente y la superficie del objeto a irradiar. Además, la sala en la que se halla dispone de láseres que sirven de guía para el posicionamiento del mismo. Con ayuda de estos dispositivos se logró posicionar correctamente el dispositivo experimental diseñado para este trabajo que permitió irradiar las muestras de sangre con una incertezza en la dosis menor al 4 %. En la Figura 2.4 se muestra una foto en la que se está controlando la distancia entre la superficie del fantoma y la fuente utilizando el telémetro y los láseres de la sala.

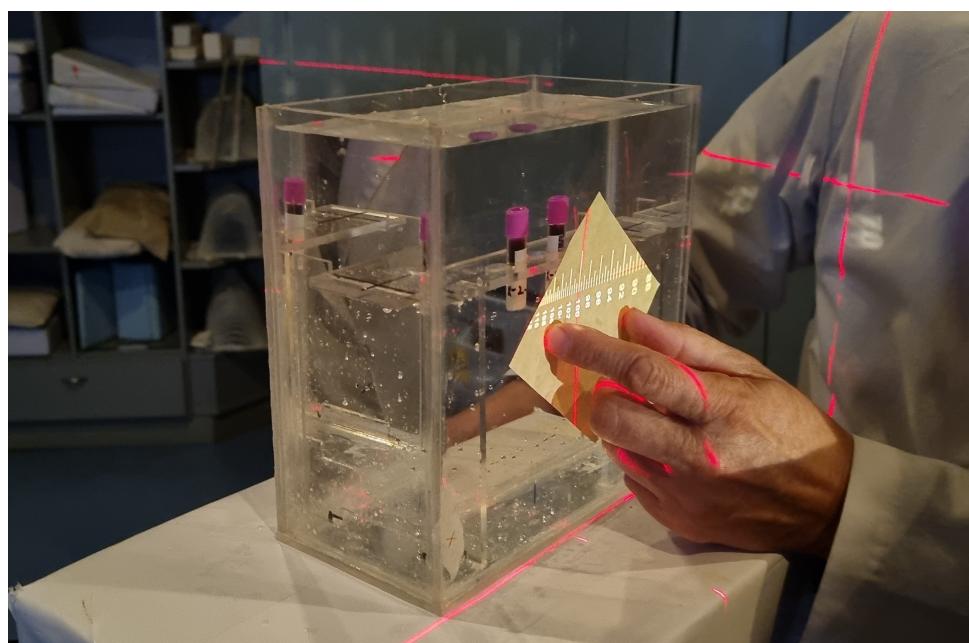


Figura 2.4: Posicionamiento del fantoma de agua con ayuda del telémetro del clinac y los láseres de la sala. Puede observarse que la superficie del fantoma se encuentra a una distancia de 100 cm de la fuente.

2.2.2. Radioprotección

La instalación donde se encuentra el acelerador lineal cuenta con un laberinto con paredes de hormigón de 60 cm y una puerta de acero de 12 mm que separa la sala del irradiador y el lugar de trabajo del personal. Consiguiendo una tasa de dosis sobre la puerta de tratamiento

de $20 \mu\text{Sv}/h^1$, siendo el límite anual de dosis para el público de $0,1 m\text{Sv}$. En el Anexo 5.4 se muestra el plano de la sala de tratamiento.

2.2.3. Fantoma de agua

A la fecha de realización de este trabajo el código de práctica para dosimetría referenciada en radioterapia externa consensuado internacionalmente es el protocolo TRS-398 provisto por IAEA (International Atomic Energy Agency) [IAEA, 2024]. Este protocolo utiliza la dosis en profundidad en agua como caracterización del haz de radiación, esta caracterización se le llama *calidad del haz*.

En base a los datos de dosis en profundidad para el haz de electrones de energía nominal de 12 MeV y haz de fotones de 15 MeV fue que se diseñó el fantoma de agua, donde se sumergen los tubos con muestras de sangre, buscando entregar la mayor uniformidad de dosis. En la Figura 2.5 se muestra la dosis en profundidad para ambos haces y la profundidad que ocupa el tubo de ensayo donde se halla la muestra.

Dado que la calidad del haz se define a partir de la dosis absorbida en agua a una cierta profundidad, es conveniente definir la unidad 1 cm (en agua) = $1 g/cm^2$. Utilizando esta unidad, el equivalente en profundidad en agua al atravesar una distancia $x [\text{cm}]$ en un material de densidad $\rho [g/cm^3]$ es igual a $\rho x [g/cm^2]$.

Se diseño y construyó un fantoma de agua exclusivamente para la realización de esta experiencia considerando las recomendaciones del protocolo internacional TRS-398 [IAEA, 2024] y los datos de dosis en profundidad del clínac Varian iX provisto por la Clínica de Radioterapia Dr Reñe.

El protocolo TRS-398 sugiere un diseño de fantoma construido con paredes de acrílico por su similaridad con la densidad del agua ($\rho = 1,18 \frac{g}{cm^3}$) y un tamaño de fantoma con 5 cm de extensión más allá de cada lado del tamaño del campo de radiación y $5 g/cm^2$ más allá de la profundidad de dosis máxima. Estas recomendaciones aseguran el equilibrio electrónico dentro del fantoma.

El fantoma fue construido utilizando un acrílico transparente de 4 mm de espesor. Su forma es la de un prisma rectangular de dimensiones $10 \text{ cm} \times 20 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$. En su interior cuenta

¹Para haces de fotones y electrones $1 \text{ Sv} = 1 \text{ Gy}$.

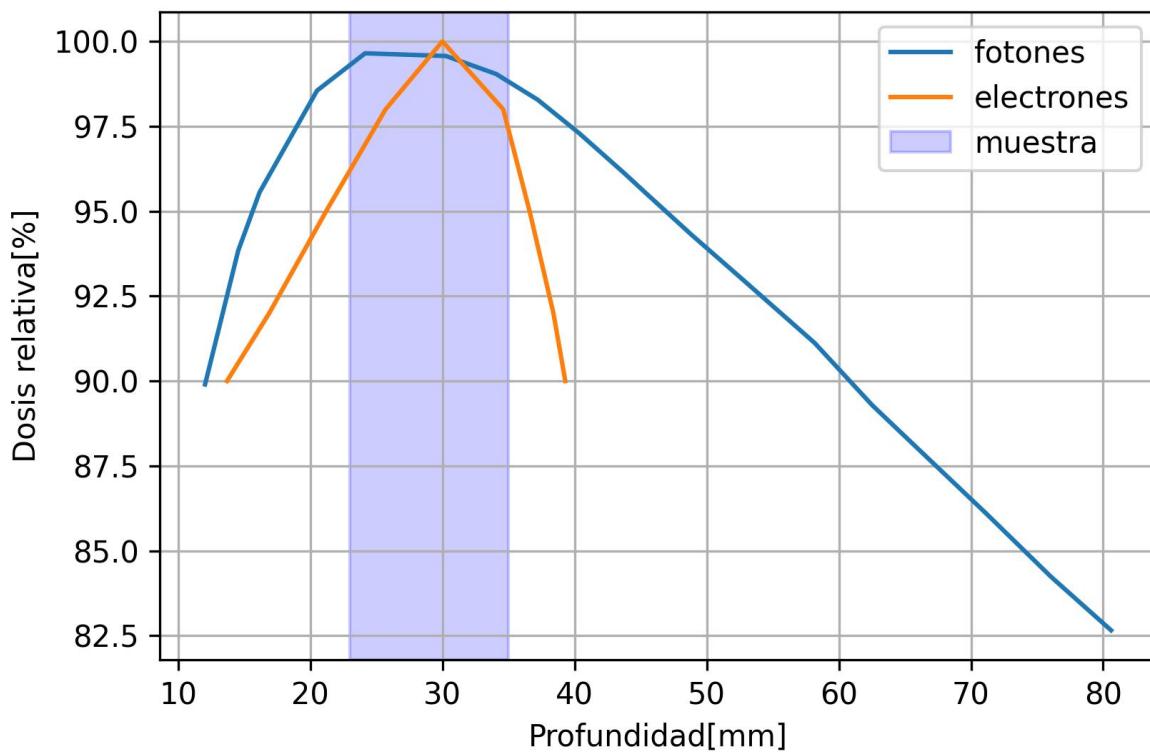


Figura 2.5: Dosis parcial en profundidad para un haz de electrones de 12 MeV y haz de fotones de 15 MeV. Dosis relativa siendo el porcentaje de dosis máxima absorbida en el fantoma de agua. En sombreado celeste la profundidad en agua que ocupa el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra de sangre a irradiar.

con un soporte de acrílico removible compuesto por una base perforada donde se colocan los tubos de ensayo y por medio unas patas de 12.5 cm se ubican los tubos centrados a una altura de 15 cm. El plano conjunto de la pieza se encuentra en el Figura 2.6. El fantoma permite una entrega de dosis con un error porcentual menor al 4 %, el detalle del cálculo de la incertezas se adjunta en el Anexo 5.5.1.

2.2.4. Protocolo de irradiación

A fin de entregar una dosis utilizando el clinac es necesario definir la *unidad monitora* para cada haz de radiación ionizante. Una unidad monitora se define como una cierta dosis en agua en centigrey (cGy) a una cierta profundidad (g/cm^2). A partir de esta definición preestablecida y datos de dosis en profundidad se logró irradiar las muestras.

Se chequeó el rendimiento en dosis por unidad monitora del haz utilizando una cámara de

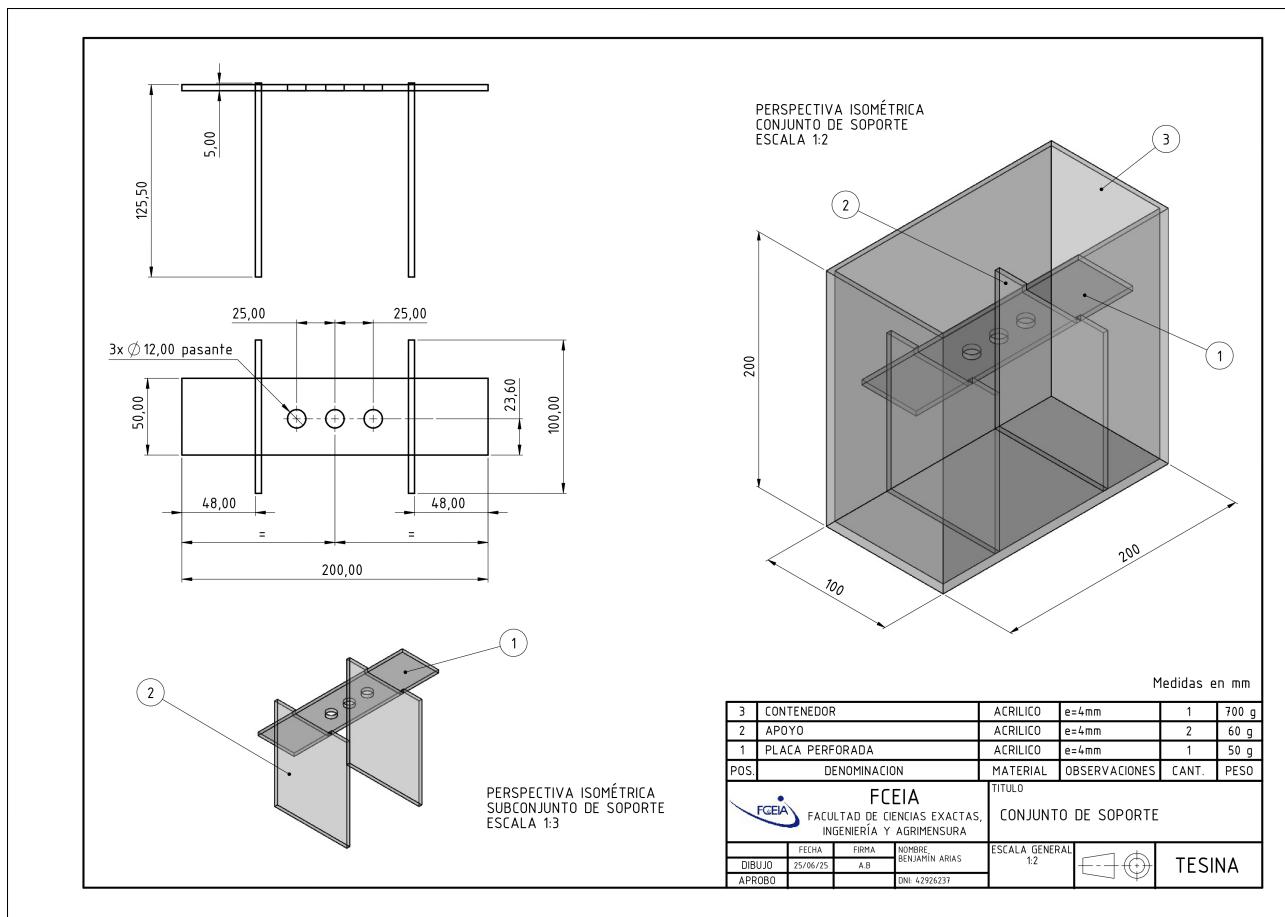


Figura 2.6: Plano conjunto del soporte

ionización farmer y un electrómetro con lectura corregida por temperatura y presión, ver Figura 2.7 y 2.8. Se llenó con agua de la red el fantoma de acrílico procurando remover burbujas que se formen bajo el soporte de los tubos de ensayo. Se colocó cada tubo de ensayo de 2.5 ml, repleto con muestra de sangre, dentro del fantoma atravesando un orificio del soporte hasta hacer contacto con la tapa del tubo de ensayo.

Con ayuda del telémetro del acelerador se posicionó la superficie del fantoma a una distancia de $100,0 \pm 0,1$ cm de la fuente y por medio de los láseres de la sala se alineó el centro del campo a la mitad de los tubos de ensayo con las muestras de sangre.

2.2.5. Irradiación con haz de electrones

Se colocó sobre el acelerador un cono focalizador del haz de 15 cm x 15 cm. Se ajustó las mandíbulas del acelerador a un tamaño de campo de 15 cm x 15 cm y la tasa de dosis a 400 UM/min. La calibración del acelerador para el haz de electrones de 12 MeV es de 0,993 cGy/UM

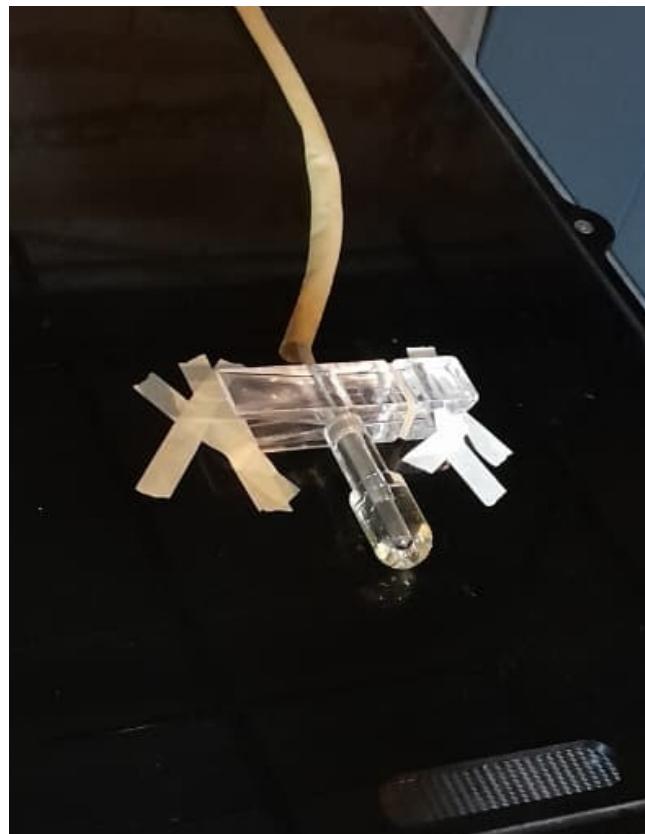


Figura 2.7: Cámara de ionización dedal Farmer con cápsula build up.



Figura 2.8: Dosímetro Farmer con lectura corregida por temperatura y presión.

(centigrey por unidad monitora) a la profundidad de dosis máxima $2,8 \text{ g/cm}^2$.

En la Figura 2.9 se muestra una imagen del clinac en configuración electrones junto con el fantoma de agua con las muestras colocadas. En la Tabla 2.1 se muestra el número de unidades

monitoras entregadas a cada muestra.

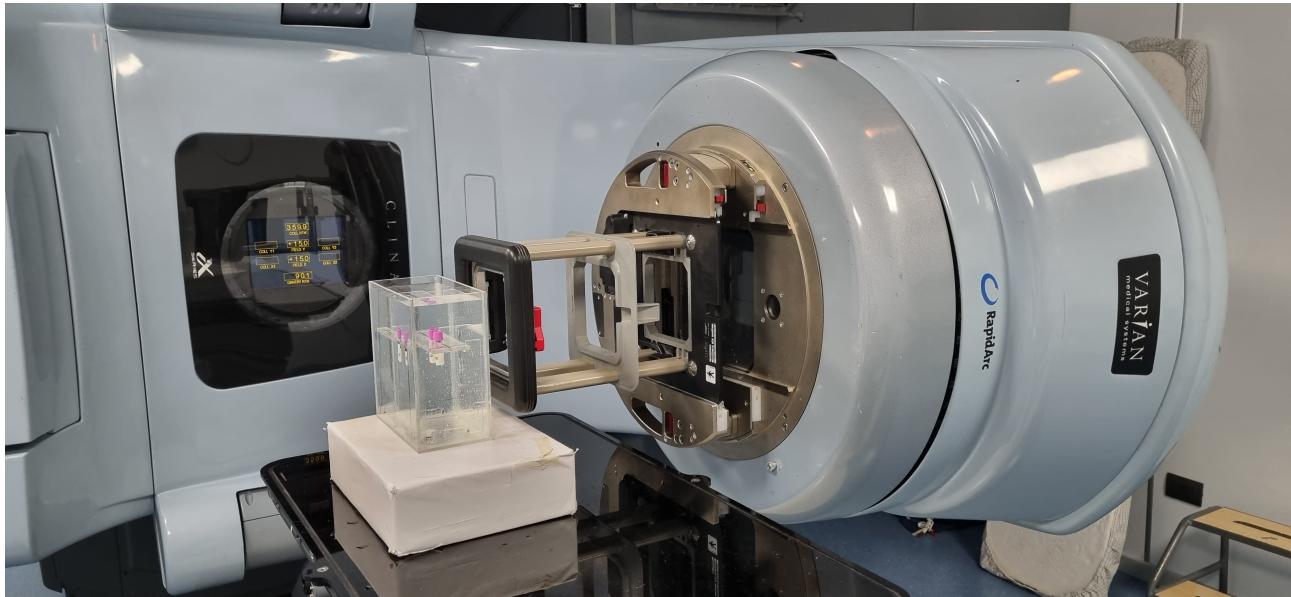


Figura 2.9: Imagen del clinac en configuración electrones junto el fantoma de agua. Puede apreciarse el cono focalizador montado.

Muestra	Total (UM)
C	-
E2	201
E10	1007
E25	1066

Tabla 2.1: Dosis entregada en unidades monitoras a cada muestra de sangre.

2.2.6. Irradiación haz de fotones X

Se ajustó las mandíbulas del clinac a un tamaño de campo de 15 cm x 15 cm y la tasa de dosis a 400 UM/min. La calibración del acelerador para el haz de fotones de 15 MeV es de 1,027 cGy/UM (centigrey por unidad monitora) a la profundidad de dosis máxima $2,6 \text{ g/cm}^2$. A la profundidad equivalente de $2,89 \text{ g/cm}^2$ que se encuentran centrados los tubos de ensayo, se tiene para este haz una dosis parcial del 99.5 %. Por lo cual, a esta profundidad se tiene una calibración de 1,022 cGy/UM.

En la Figura 2.10 se muestra una imagen del clinac en configuración fotones junto con el fantoma de agua. En la Tabla 2.2 se muestra el número de unidades monitoras entregadas a cada muestra.

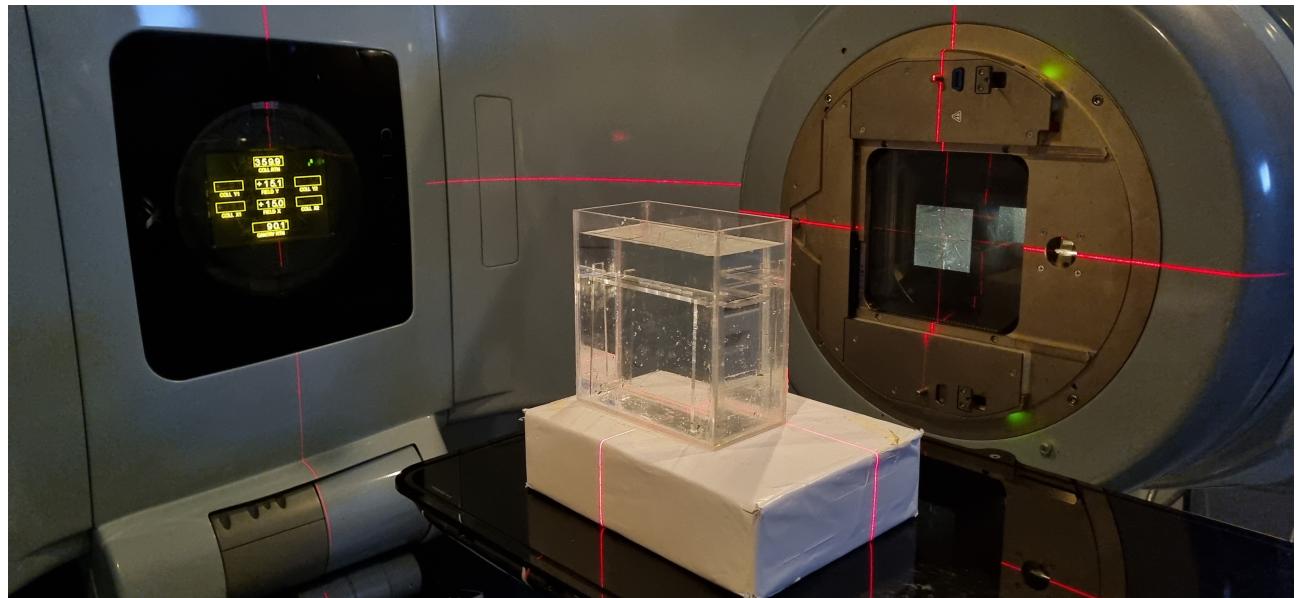


Figura 2.10: Imagen del clinac en configuración fotones junto el fantoma de agua.

Muestra	Total (UM)
C	-
X2	196
X10	978
X25	2446

Tabla 2.2: Dosis entregada en unidades monitoras a cada muestra de sangre.

2.3. Agregómetro Eritrocitario de Chip Óptico

En esta tesina se utilizó un equipo desarrollado por el Grupo de Física Biomédica del IFIR (CONICET-UNR), que permite mediante técnica de transmisión de láser una evaluación rápida y eficaz del fenómeno de agregación eritrocitaria utilizando $15 \mu\text{L}$ de sangre entera. En la Figura 2.11 se muestra un esquema del dispositivo experimental.

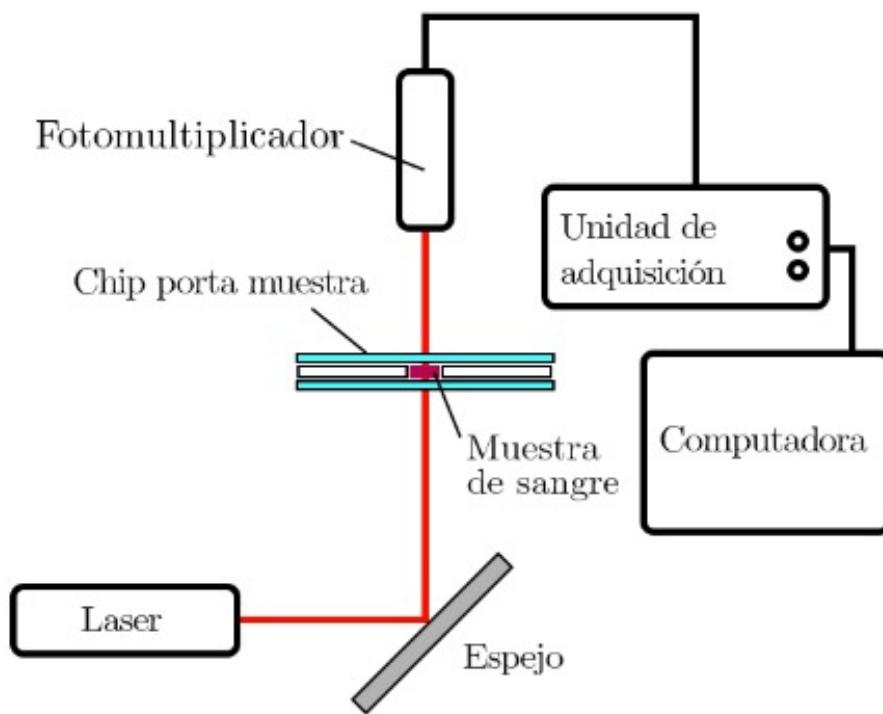


Figura 2.11: Esquema del Agregómetro Eritrocitario de Chip Óptico desarrollado por el Grupo de Física Biomédica del IFIR (CONICET-UNR) basado en la ley de Beer-Lambert.

Esta técnica se basa en la ley empírica de Beer-Lambert que relaciona la intensidad de luz que atraviesa un material con la concentración de la sustancia absorbente presente en él. Al ensamblarse gradualmente los glóbulos rojos previamente desagregados se reduce la concentración de estas sustancias absorbentes en la muestra de sangre. Por lo cual, la intensidad de la luz aumenta con el paso del tiempo. Un modelo de ajuste propuesto [Shin et al., 2009] para la gráfica de intensidad de luz en función del tiempo (silectograma) se muestra en la ecuación 2.1 y permite definir ciertos índices de agregación que se describen en la Figura 2.12.

$$I(t) = I_f e^{-t/T_f} + I_s e^{-t/T_s} + I_0 \quad (2.1)$$

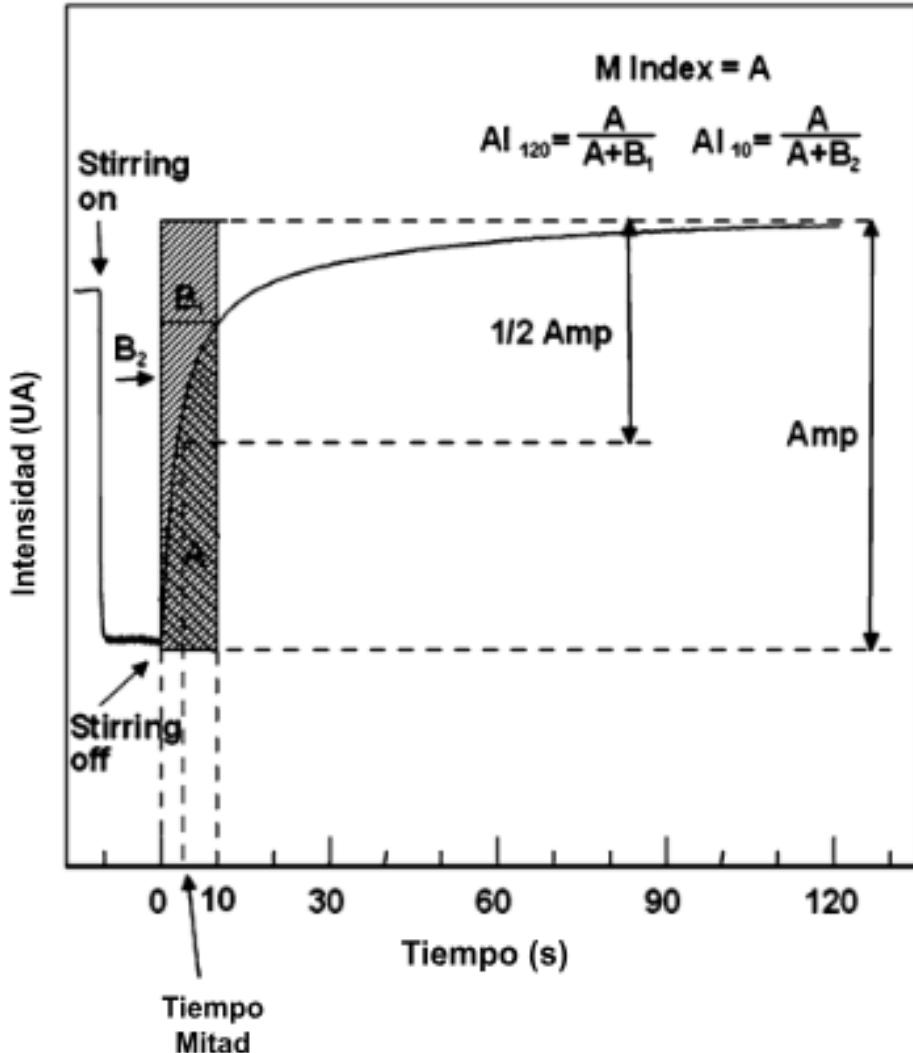


Figura 2.12: Indices de agregación eritrocitaria definidos a partir del ajuste del silectograma con la función 2.1. [Shin et al., 2009]

- AMP: La diferencia entre la intensidad de luz mínima I_{min} y esta a un cierto tiempo.
 - Tiempo Mitad: El tiempo requerido para alcanzar la intensidad $I_{min} + AMP/2$, indicando el tiempo característico para alcanzar la mitad del nivel de agregación.
 - Índice M: El área bajo el silectograma indicando el grado de agregación a un cierto tiempo.
 - Índice de Agregación (AI): El cociente entre el área bajo el silectograma y el área formado por el rectángulo definido por la intensidad de luz y el tiempo transcurrido.

2.3.1. Medición cinética de agregación

En la Figura 2.13 se muestra un silectograma medido utilizando el agregámetro de chip óptico para una muestra irradiada con 2 Gy de electrones junto con el ajuste con la función 2.1. La unidad de la intensidad de luz y el tiempo es arbitraria. El tiempo de muestreo equivale a 960 ms.

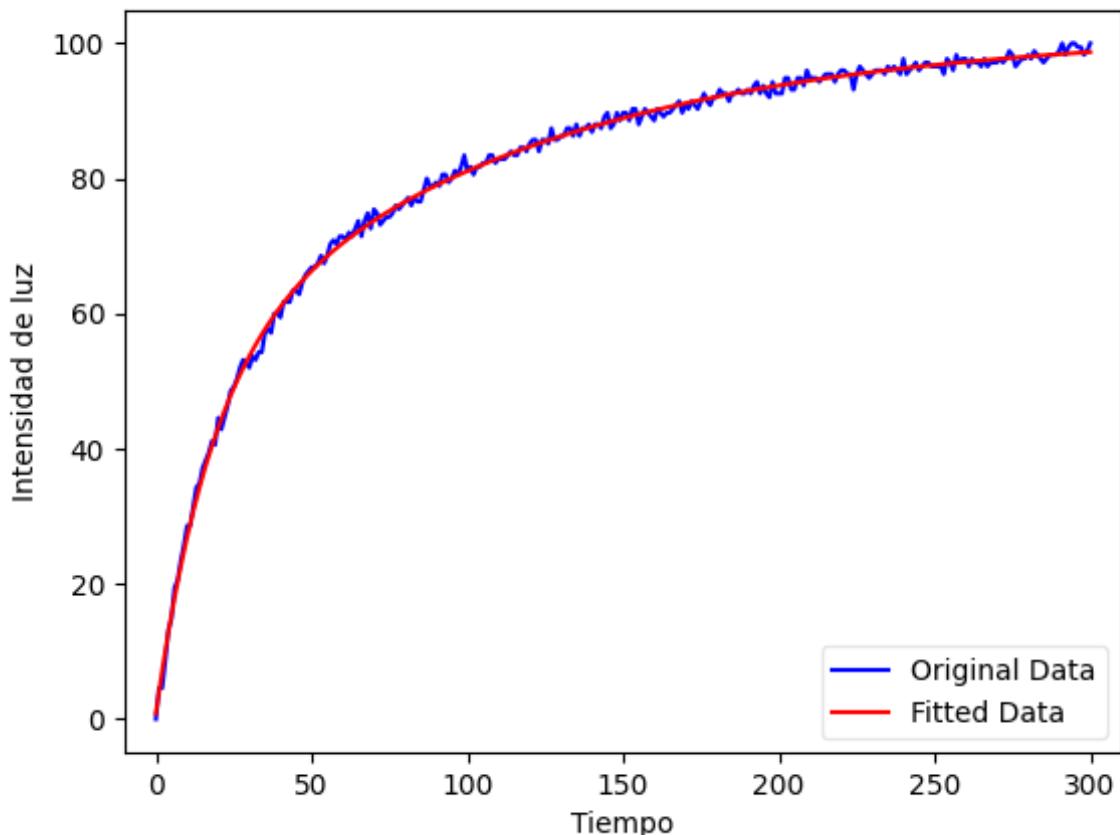


Figura 2.13: Silectograma medido utilizando el agregámetro eritrocitario de chip óptico en azul y en rojo el ajuste obtenido con la función 2.1. Intensidad de luz y tiempo en unidades arbitrarias. Tiempo de muestreo 960 ms.

Para la puesta a punto del fotomultiplicador se encendido y se aguardó 30 minutos. Luego se verificó que se registre 700 en modo HV (con un rango x100) y más de 1500 en modo Signal (con un rango x1). Seguidamente, se homogenizó cada muestra por inmersión durante 1 minuto. De cada muestra se tomó 0.75 ml de sangre entera y se centrifugó a 2500 rpm durante 5 minutos.

2.3.1.1. Ensayo 1

Se tomaron $60 \mu L$ de plasma de cada muestra y $40 \mu L$ de glóbulos rojos (reconstrucción al 40 %). Antes de cada medición, se desagregó la muestra durante 1 minuto y 30 segundos utilizando el tip de la pipeta. Se extrajeron $15 \mu L$ y se continuó agitando cuidadosamente sobre el chip durante 30 segundos. Se midió el grado de agregación durante 5 minutos. Se midió por quintuplicado cada muestra (0,2,10,25 Gy).

2.3.1.2. Ensayo 3

Se tomó $105 \mu L$ de plasma de cada muestra y $70 \mu L$ de glóbulos rojos (reconstrucción al 40 %). Antes de cada medición, se desagregó la muestra durante 2 minutos y 15 segundos utilizando el tip de la pipeta. Se extrajeron $15 \mu L$ y se continuó agitando cuidadosamente sobre el chip durante 30 segundos. Se midió el grado de agregación durante 5 minutos. Se midió por quintuplicado cada muestra (0,2,10,25 Gy).

2.4. Microscopio óptico

Se utilizó un microscopio óptico Union Optical, provisto por el laboratorio de Facultad de Ciencias Biomédicas y Farmacia (FCByF), con un objetivo 40x acoplado a una cámara digital (Mikoba 300 CMOS 3.0) con la que se tomaron imágenes de los agregados eritrocitarios, ver Figura 2.15.

2.4.1. Toma de imágenes en microscopio óptico

Se tomó 200 μL de plasma de cada muestra y 0.5 μL de glóbulos rojos (reconstrucción al 0.25 %) y se homogenizó por pipeteo 15 veces. Se extrajo 20 μL del preparado sobre un portamuestras, se dejó 5 minutos en reposo la muestra y se tomaron 7 imágenes de campos elegidos al azar.

Las imágenes tomadas fueron analizadas utilizando la herramienta Cell Counter Notice del programa Image J, no se realizó ningún tratamiento a la imagen previo a su análisis. El análisis de las imágenes consistió en el conteo de células según 3 categorías: células aisladas, agregadas y equinocitadas, ver Figura 2.14.

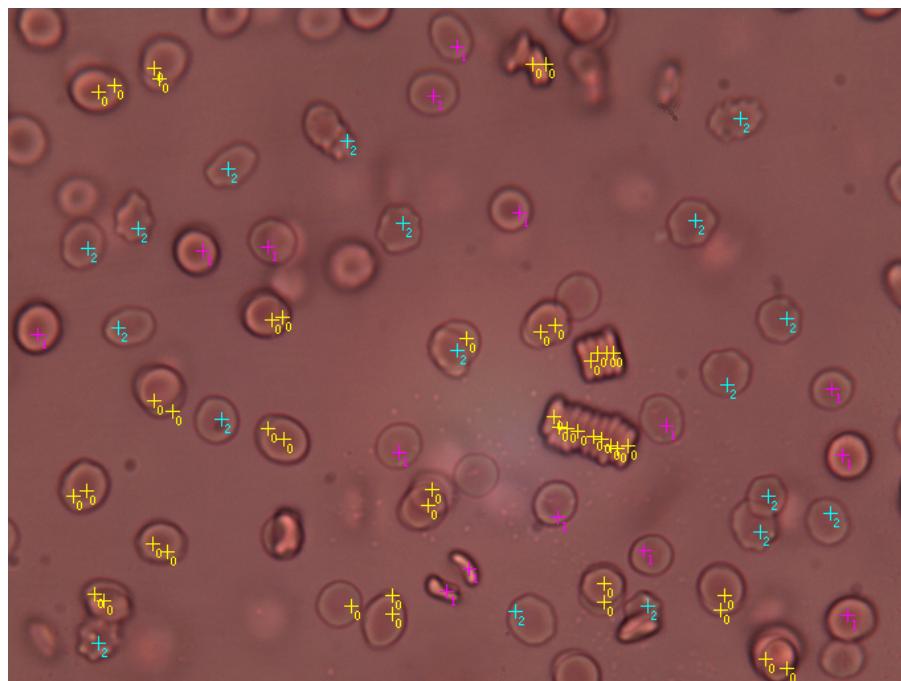


Figura 2.14: Imagen analizada de muestra irradiada con fotones a 25 Gy. Dependiendo el color del marcador se categoriza cada célula de la imagen. En amarillo las células agregadas, en rojo las células aisladas y en celeste las células equinocitadas.

Luego del análisis se calculó la suma total de células (células agregadas, aisladas, equinoci-

tadas), se definió el porcentaje de células aisladas y el porcentaje de células equinocitadas como el cociente entre la cantidad de células de ese tipo y el número total de células.



Figura 2.15: Imagen del microscopio óptico provisto por el laboratorio de Facultad de Ciencias Biomédicas y Farmacia (FCByF).

Capítulo 3

Resultados y Discusión

3.1. Cinética de agregación

3.1.1. Ensayo 1

En la Figura 3.1 se muestra un gráfico de cajas del tiempo mitad medido por quintuplicado para cada muestra irradiada con un haz de electrones de 12 MeV a distintas dosis, la medición se realizó transcurridas menos de 24 horas de la irradiación.

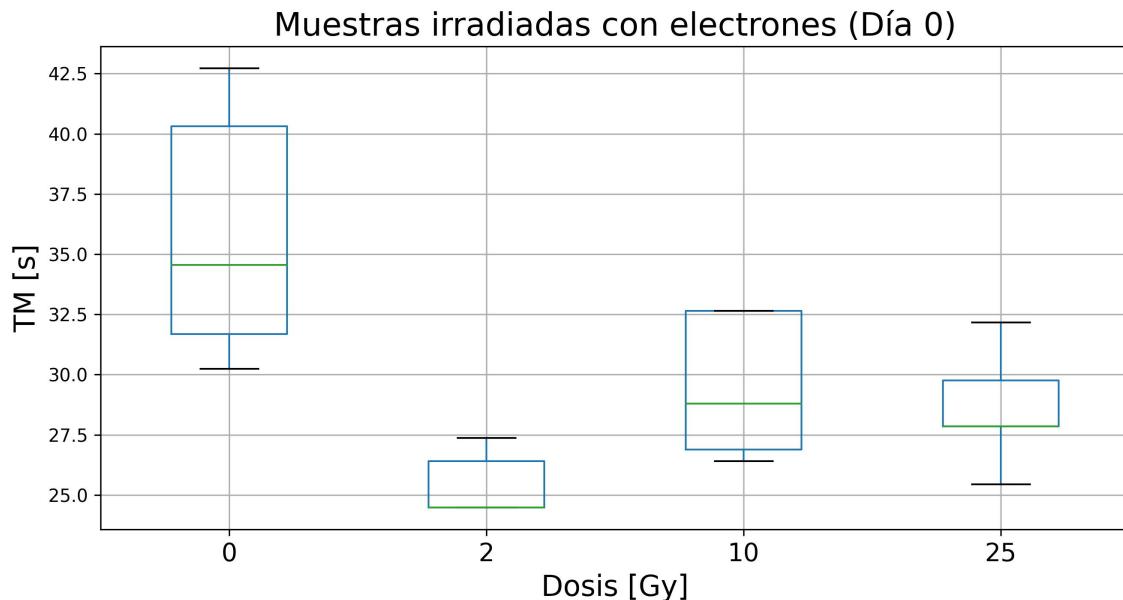


Figura 3.1: Tiempo mitad de muestras irradiadas con haz de electrones de 12 MeV a distintas dosis medido menos de 24 hrs después de la irradiación, sangre de donante sano anticoagulada con EDTAK₃.

Muestra	Promedio	Desvío	Error [%]	p-valor
C	37	6	15	-
E2	26.5	1.4	5	0.0031
E10	31	3	10	0.0493
E25	30	3	9	0.0258

Tabla 3.1: Valores tiempo mitad promedio, desviación y p valores respecto del control.

3.1.2. Ensayo 2

Debido a inconvenientes en el sistema de adquisición del agregámetro de chip óptico no fue posible medir con confianza la cinética de agregación de las muestras.

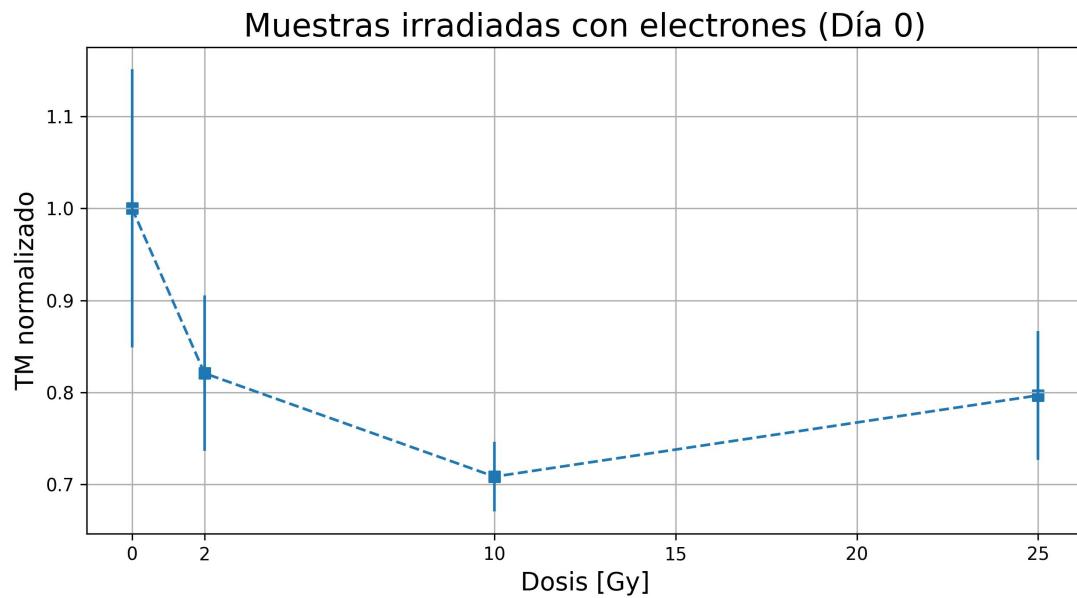


Figura 3.2: Tiempo mitad normalizado respecto al control de muestras irradiadas con haz de electrones de 12 MeV a distintas dosis medido menos de 24 hrs después de la irradiación, sangre de donante sano anticoagulada con EDTAK₃.

3.1.3. Ensayo 3

En la Figura 3.3 se muestran dos gráficos de cajas del tiempo mitad medido por quintuplicado para cada muestra irradiada con un haz de electrones de 12 MeV y un haz de fotones de 15 MeV a distintas dosis, la medición se realizó transcurridas menos de 24 horas luego de la irradiación.

Muestra	Promedio	Desvío	Error [%]	p-valor
C	35	6	17	-
E2	36	5	15	0.8
E10	39	5	14	0.3
E25	37	7	19	0.7
X2	35	6	17	0.9
X10	37	6	16	0.5
X25	32	2	7	0.4

Tabla 3.2: Valores tiempo mitad promedio, desviación y p valores respecto del control.

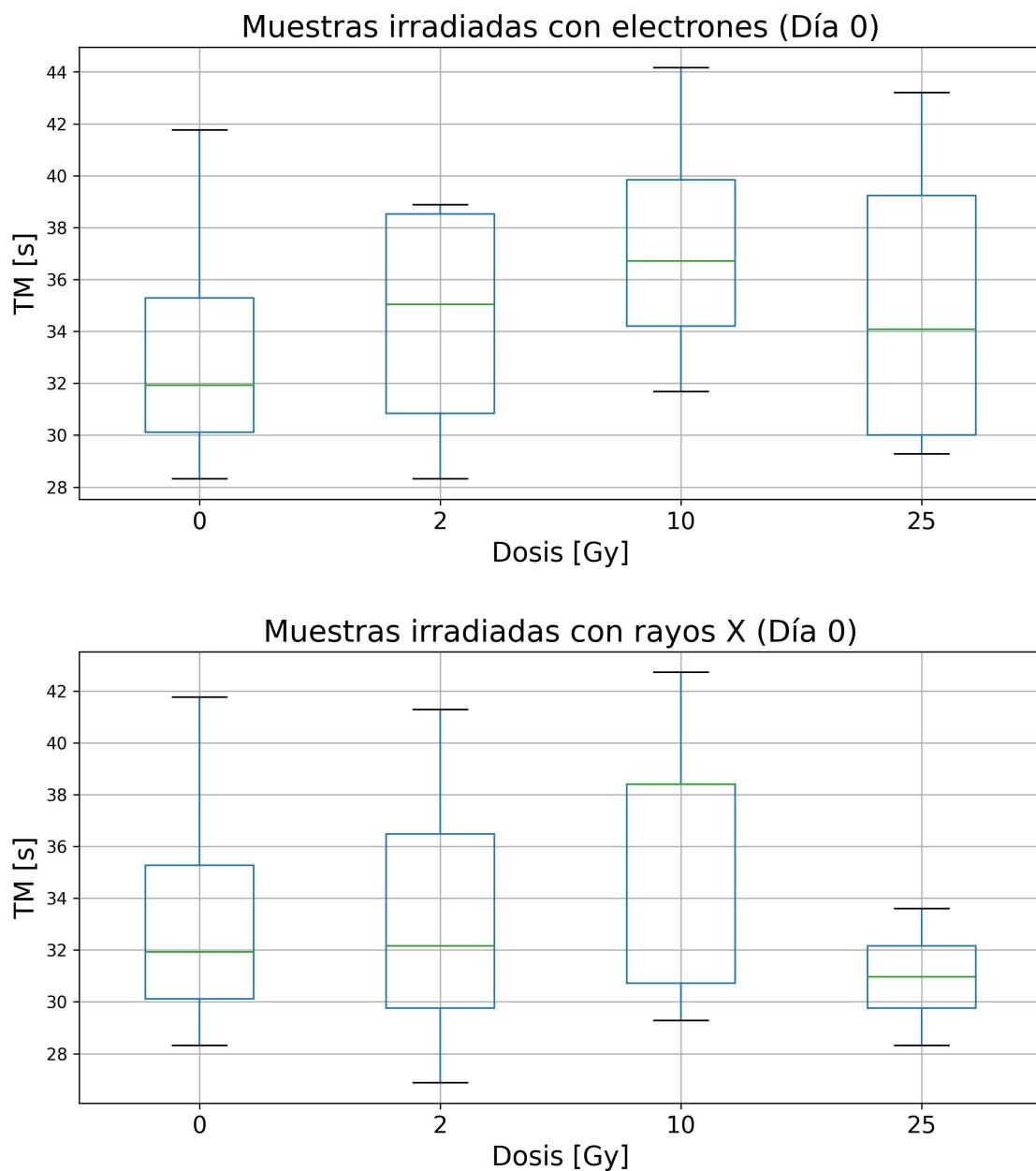


Figura 3.3: Tiempo mitad de muestras irradiadas con haz de electrones de 12 MeV y haz de fotones de 15 MeV a distintas dosis medida menos de 24 hrs después de la irradiación, sangre de donante sano anticoagulada con EDTAK₃.

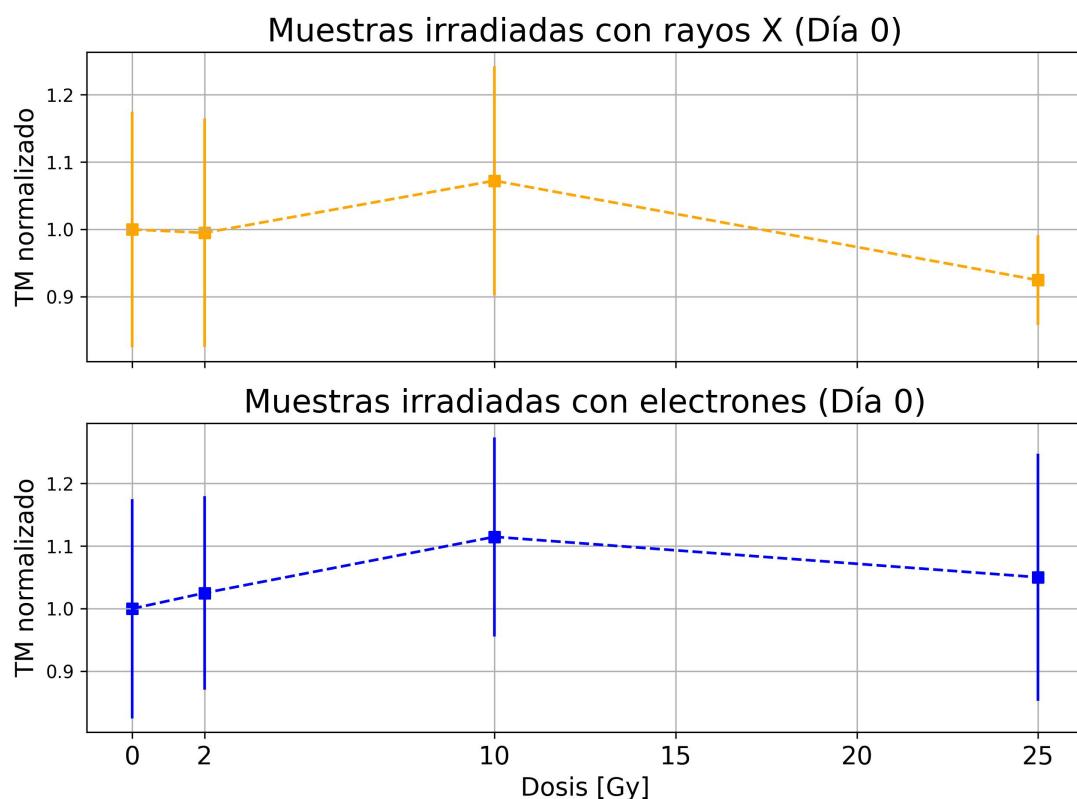
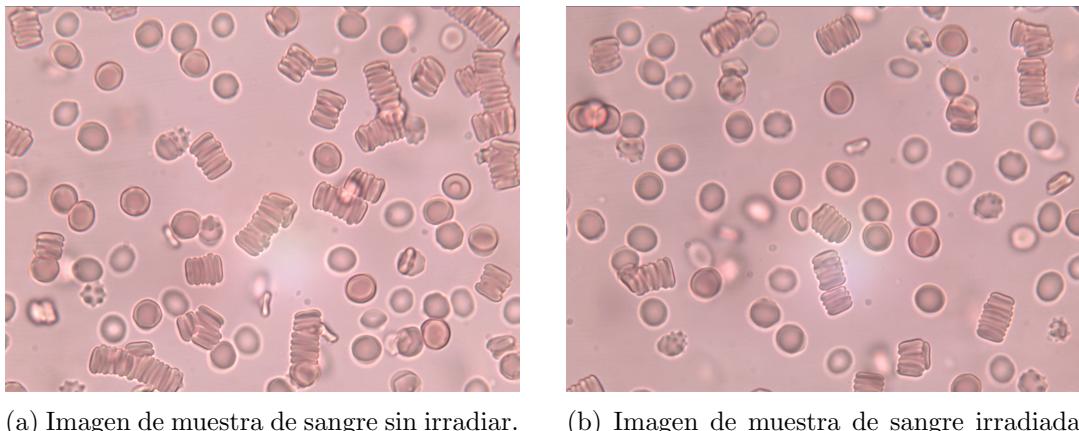


Figura 3.4: Tiempo mitad normalizado respecto al control de muestras irradiadas con haz de electrones de 12 MeV y haz de fotones de 15 MeV a distintas dosis medida menos de 24 hrs después de la irradiación, sangre de donante sano anticoagulada con EDTAK₃.

3.2. Análisis de imágenes

En la Figura 3.5 se muestra la comparación entre dos imágenes tomadas utilizando el microscopio óptico entre una muestra de sangre irradiada con 25 Gy de electrones y una muestra sin irradiar. Las imágenes fueron analizadas como se detalla en la sección 2.4.



(a) Imagen de muestra de sangre sin irradiar.

(b) Imagen de muestra de sangre irradiada con 25 Gy de electrones.

Figura 3.5: Comparación de imágenes tomadas utilizando el microscopio óptico. Puede apreciarse mayor cantidad de células equinocitadas en la imagen correspondiente a la muestra irradiada.

3.2.1. Ensayo 1

En la Figura 3.6 se muestra el porcentaje de células aisladas y equinocitadas para la muestra control e irradiada con 25 Gy de electrones. El resultado fue obtenido a partir del promedio entre 6 imágenes con incertezas iguales al desvío estándar. Los valores graficados se encuentran en Tabla 3.3.

Muestra	Células Aisladas [%]	Equinocitos [%]
C	12 ± 8	5 ± 2
E25	10 ± 5	18 ± 7

Tabla 3.3: Porcentaje de glóbulos rojos aislados y equinocitados para la muestra control e irradiada con 25 Gy de electrones. Valores graficados en Figura 3.6.

Muestra	p-valor Aisladas	p-valor Equinocitos
E25	0.6681	0.00125

Tabla 3.4: Tabla de P valores respecto al control.

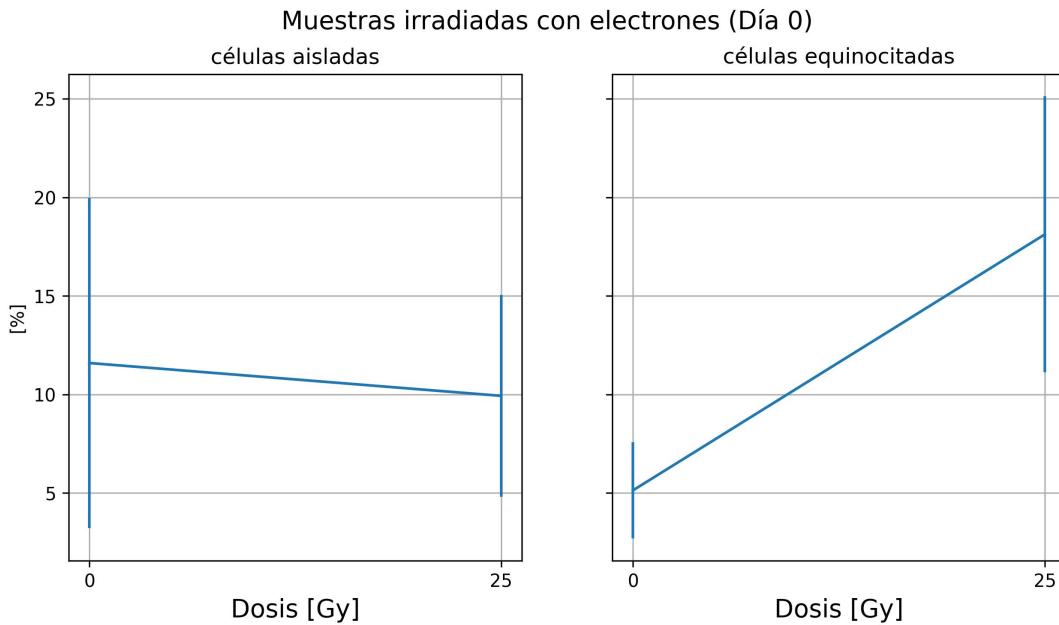


Figura 3.6: Porcentaje de células aisladas y equinocitadas para la muestra control e irradiada con 25 Gy de electrones.

3.2.2. Ensayo 2

En la Figura 3.7 se muestra el porcentaje de células aisladas y equinocitadas para la muestra control e irradiadas con 25 Gy de electrones (azul) y rayos X (naranja). El resultado fue obtenido a partir del promedio entre 8 imágenes con incerteza igual al desvío estándar. Los valores graficados se encuentran el Tabla 3.5.

Muestra	Células Aisladas [%]	Equinocitos [%]
C	30 ± 5	7 ± 2
E25	24 ± 4	10 ± 4
X25	23 ± 4	13 ± 4

Tabla 3.5: Porcentaje de glóbulos rojos aislados y equinocitados para la muestra control e irradiada con 25 Gy de electrones y rayos X. Valores graficados en Figura 3.7.

Muestra	p-valor Aisladas	p-valor Equinocitos
E25	0.173	0.196
X25	0.059	0.022

Tabla 3.6: P valores respecto al control.

P-valor Equinocitos entre muestras irradiadas con electrones y rayos X: 0.163

Muestras irradiadas con electrones y rayos X (Día 0)

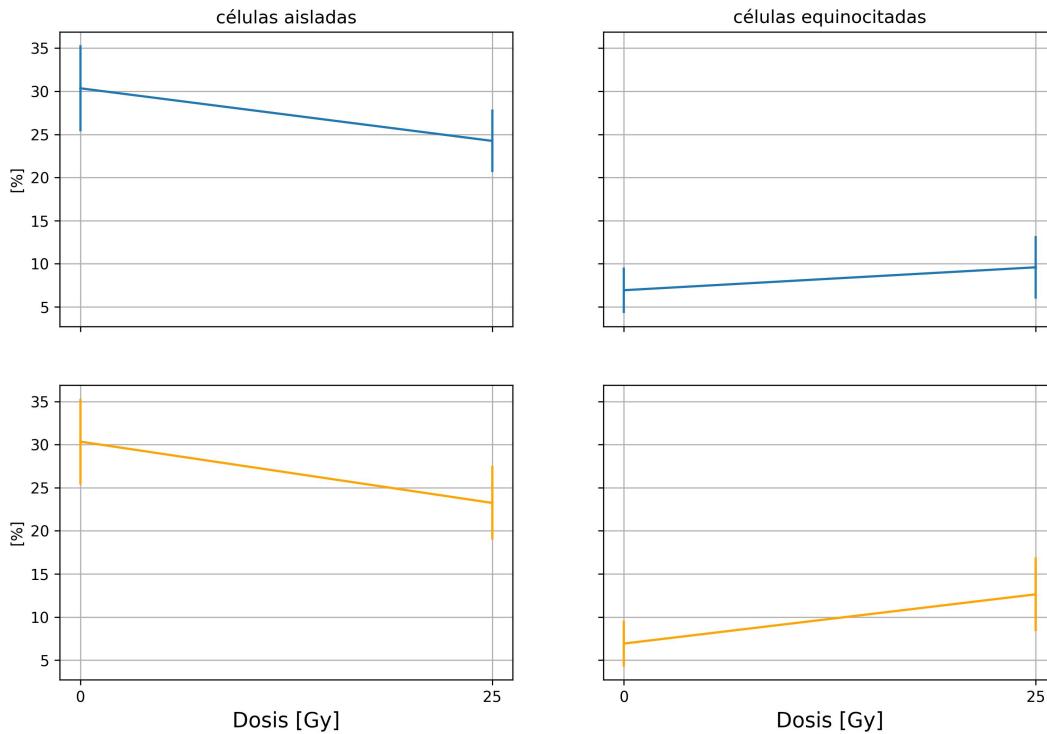


Figura 3.7: Porcentaje de células aisladas y equinocitadas. En azul muestras irradiadas con electrones y en naranja irradiadas con rayos X. Resultado promedio entre 8 imágenes con incertezas iguales al desvío estándar.

3.2.3. Ensayo 3

En la Figura 3.8 se muestra el porcentaje de células aisladas y equinocitadas para la muestra control e irradiadas con 25 Gy de electrones (azul) y rayos X (naranja). El resultado fue obtenido a partir del promedio entre 6 imágenes con incertezas iguales al desvío estándar. Los valores graficados se encuentran en la Tabla 3.7.

Muestra	Células Aisladas [%]	Equinocitos [%]
C	19 ± 5	12 ± 3
E25	18 ± 4	20 ± 4
X25	25 ± 7	27 ± 8

Tabla 3.7: Porcentaje de glóbulos rojos aislados y equinocitados para la muestra control e irradiada con 25 Gy de electrones y rayos X. Valores graficados en Figura 3.7.

P-valor Equinocitos entre muestras irradiadas con electrones y rayos X: 0.037

Muestras irradiadas con electrones y rayos X (Día 0)

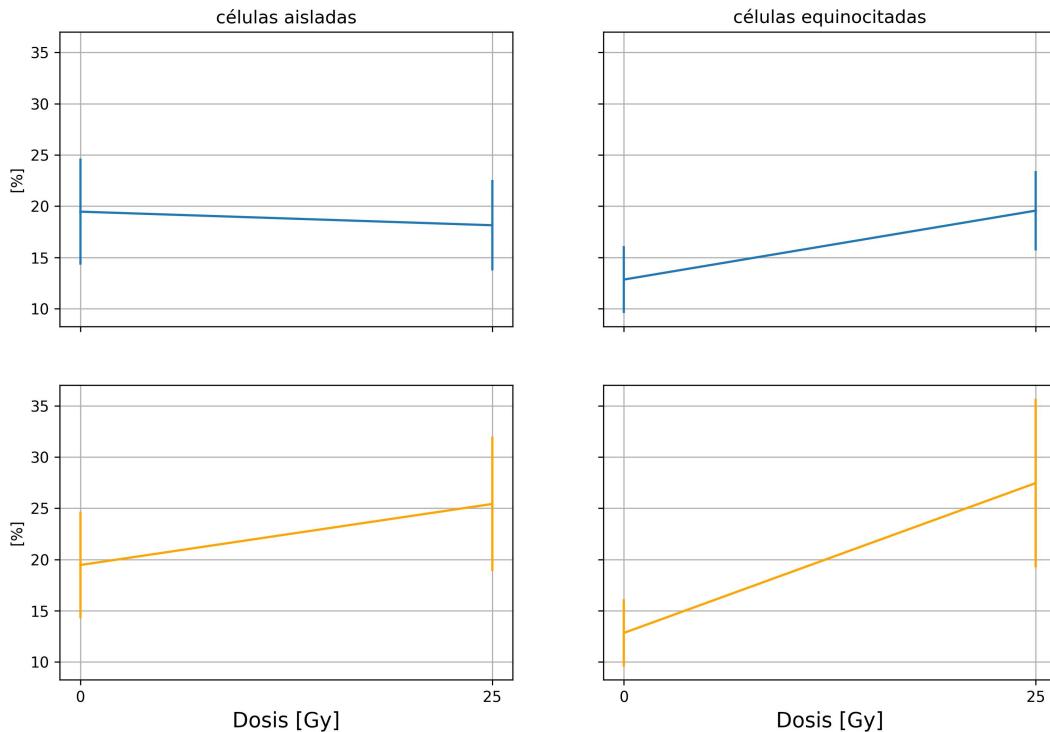


Figura 3.8: Porcentaje de células aisladas y equinocitadas. En azul muestras irradiadas con electrones y en naranja irradiadas con rayos X. Resultado promedio entre 6 imágenes con incertezas iguales al desvío estándar.

Muestra	p-valor Aisladas	p-valor Equinocitos
E25	0.606	0.0029
X25	0.063	0.0003

Tabla 3.8: P valores respecto al control.

3.3. Discusión de resultados

3.3.1. Cinética de agregación

Los resultados del tiempo mitad obtenidos en el primer ensayo se asemejan a resultados obtenidos en trabajos anteriores [Ezequiel Lizandro Estrada, 2021] donde se utilizó como fuente de radiación la emisión gamma del radioisótopo ^{137}Cs en lugar de un haz de electrones de 12 MeV, ver Figura 3.9. En la Figura 3.2 puede observarse que el tiempo mitad alcanza un mínimo a dosis de radiación entre 2 y 10 Gy, luego aumenta hasta alcanzar un valor estable por debajo del valor control. Este cambio en la cinética de agregación sugiere un deterioro del glicocalix de la membrana del eritrocito. En el tercer ensayo, Figura 3.4, no se observó diferencia significativa respecto al control en el tiempo mitad tanto para las muestras irradiadas con electrones como con rayos X. Esto pudo deberse al cambio en el protocolo de medición ocasionando una mayor dispersión de datos.

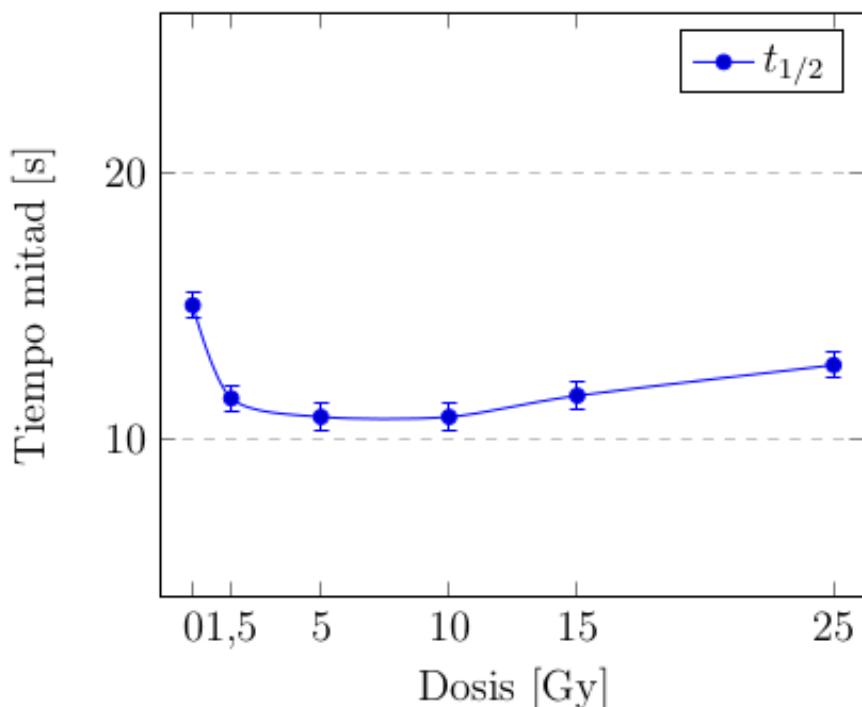


Figura 3.9: Tiempo mitad de muestras irradiadas con rayos gamma. Imagen extraída de [Ezequiel Lizandro Estrada, 2021].

3.3.2. Análisis de imágenes

Se observó diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto al control en la cantidad de glóbulos rojos equinocitados para las muestras irradiadas a 25 Gy con rayos X y electrones, lo que demuestra el detrimiento de eritrocitos al ser irradiados con radiación ionizante a altas dosis, Figuras 3.6, 3.7, 3.8. Este cambio puede estar relacionado a cambios en la permeabilidad de la membrana del eritrocito, comprometiendo su equilibrio osmótico, como se ha mostrado en trabajos anteriores [Alet et al., 2025]. No se halló diferencia significativa respecto al control en la cantidad de células aisladas. En el tercer ensayo, a diferencia del segundo, se encontró diferencia significativa en la cantidad de glóbulos rojos equinocitados entre la muestra irradiada con electrones y rayos X. Sin embargo, ambos haces de radiación tienen LET similares y generan aproximadamente la misma cantidad de especies reactivas por cada unidad de energía depositada en el medio (por ejemplo el rendimiento del radical hidroxilo $G(OH) = 2,8 \cdot 10^{-7} \text{ mol/J}$), siendo la acción indirecta la predominante contribución al daño biológico. Por lo cual, esta diferencia es atribuible a un hecho causal.

Capítulo 4

Conclusión

El objetivo de este trabajo fue analizar alteraciones en parámetros hemorreológicos de muestras de sangre entera irradiadas con haces de electrones y rayos X a dosis utilizadas en radioterapia convencional, intraoperatoria y radiocirugía. Estudiar los cambios en estos parámetros en función de la dosis depositada permite evaluar, en primera instancia, posibles complicaciones en pacientes tratados mediante las terapias mencionadas.

A fin de realizar esta investigación se diseñó y construyó un dispositivo experimental, bajo las recomendaciones del protocolo TRS-398, que permite irradiar muestras de sangre con haces de electrones de 12 MeV y fotones de 15 MeV garantizando una entrega de dosis con una incertezza relativa menor al 4 % como se detalla en el Anexo 5.5.1.

Mediante el análisis de imágenes de microscopio óptico, se logró determinar *in vitro* un deterioro en la integridad de glóbulos rojos irradiados por medio del recuento de células equinocitadas. Este resultado está en concordancia con trabajos anteriores [Alet et al., 2025]. Además, en un reciente trabajo [Della Rosa et al., 2025] se halló diferencia de senescencia en estas muestras al ser teñidas con colorante FM-464 el cual permite evaluar formación de vesículas y roturas en la membrana del eritrocito. Este detrimento a nivel de la membrana eritrocitaria por formación de espículas puede afectar la capacidad de intercambio de gases de los glóbulos rojos con los tejidos.

Los resultados obtenidos con el Agregámetro de Chip Óptico mostraron una tendencia similar a trabajos anteriores [Ezequiel Lizandro Estrada, 2021] en la respuesta del tiempo mitad, definido como el tiempo para alcanzar la mitad de la agregación total, frente a la radiación ionizante producida por un haz de electrones de 12 MeV. Esta alteración sugiere un deterioro del glicocalix de la membrana del eritrocito por efecto de la radiación. Siendo la agregación eritrocitaria un factor determinante en la viscosidad sanguínea a bajas velocidades de flujo. Sin embargo, el mecanismo que da lugar al comportamiento observado aún no es claro desde un punto de vista teórico.

Para futuros ensayos se propone estudiar los protocolos de medición del agregámetro eritrocitario buscando minimizar la dispersión de datos. Además, repetir el ensayo con sangre de distintos donantes sanos y analizar si observa la misma tendencia del tiempo mitad frente a la dosis recibida.

Capítulo 5

Anexos

5.1. Fluencia

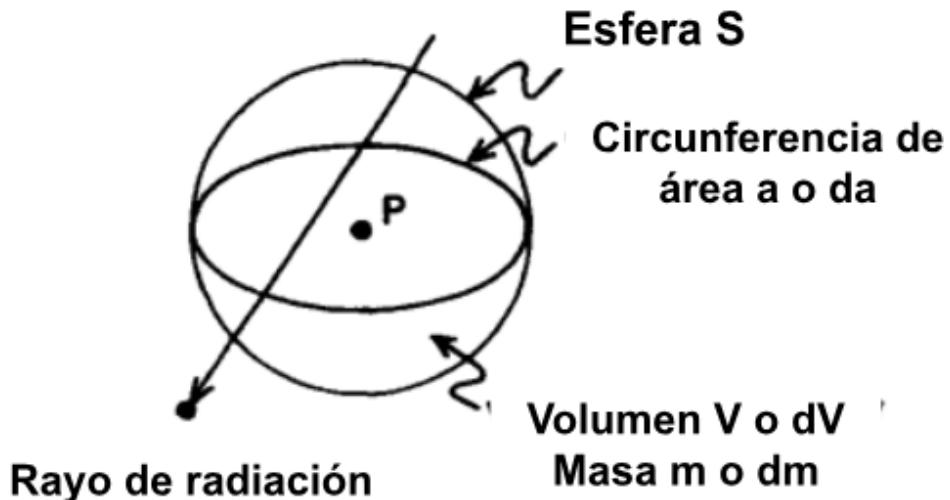


Figura 5.1: Esfera centrada en un punto P del espacio a fin para caracterizar un campo de radiación atravesando la superficie de dicha esfera. [Attix, 1986]

Consideremos una esfera de volumen V centrada en un punto P del espacio como se muestra en la Figura 5.1 notar que su área de sección transversal es igual para todas las direcciones. Si nos preguntamos cuantos rayos atravesarán dicha esfera, la naturaleza estocástica de la radiación nos indique que

- La cantidad de rayos que atraviesan la esfera es aleatoria y no puede ser predicho. Sin embargo, dicha cantidad sigue una distribución de probabilidad.
- Dado que está definido para volumen no infinitesimal. Su valor varía discontinuamente en espacio y tiempo, por lo cual no tiene sentido hablar de un gradiente ni de tasa de cambio.
- Su valor puede ser medido, en principio, con error arbitrariamente pequeño.
- El valor de expectación de una cantidad estocástica N_e es el promedio \bar{N} de medir el valor N un número de observaciones n que tiende a infinito. Es decir, $\bar{N} \rightarrow N_e$ cuando $n \rightarrow \infty$

Dado el número de expectación N_e de rayos atravesando una esfera finita alrededor de un punto P durante un lapso arbitrario de tiempo. Si reducimos la esfera centrada en el punto P a un volumen infinitesimal de área transversal da , definiremos *fluencia*, Φ , a la cantidad obtenida a partir del cociente entre el diferencial N_e con da

$$\Phi = \frac{dN_e}{da}$$

Sea R el valor de expectación de la energía total (excluyendo energía en reposo) llevada por los N_e rayos atravesando la esfera finita centrada en el punto P durante cierto intervalo arbitrario de tiempo. Si reducimos la esfera centrada en el punto P a un volumen infinitesimal de área transversal da , definiremos *fluencia de energía*, Ψ , a la cantidad obtenida a partir del cociente entre el diferencial R con da

$$\Psi = \frac{dR}{da}$$

5.2. Kerma

El Kerma es una cantidad no estocástica solo relevante para campos de radiación indirectamente ionizante, en nuestro caso fotones X. Es definida en términos de la cantidad estocástica *energía transferida*, ϵ_{tr} definida como

$$\epsilon_{tr} = (R_{in})_u - (R_{out})_u^{non\ r} + \Sigma Q$$

La energía radiante R es la energía emitida por una partícula. El término $(R_{in})_u$ es la energía radiante de todas las partículas no cargadas que ingresa a un volumen V, el término $(R_{out})_u^{non\ r}$ es la energía radiante de las partículas no cargadas que abandonan el volumen V (sin considerar fotones producidos por pérdidas radiativas bremsstrahlung). El término ΣQ es la energía derivada de masa en reposo en el volumen V, asume signo positivo si se convierte masa en energía y negativo viceversa.

En la Figura 1.9 se ilustra un ejemplo de un volumen V sobre el cual incide un fotón de energía $h\nu_1$. Interactúa mediante efecto Compton, pierde parcialmente su energía y pasa a ser un fotón de energía $h\nu_2$. El electrón arrancando del átomo del volumen adquiere una energía cinética T y luego interactúa con el núcleo de otro átomo generando un fotón bremsstrahlung de energía $h\nu_3$ antes de abandonar el volumen, ahora con energía cinética T' . Por último, el electrón genera otro fotón bremsstrahlung ($h\nu_4$) fuera del volumen de interés.

Para este caso tendremos que

$$(R_{in})_u = h\nu_1, \quad (R_{out})_u^{non\ r} = h\nu_2$$

$$\Sigma Q = 0$$

Y por lo tanto la energía transferida es igual a

$$\epsilon_{tr} = h\nu_1 - h\nu_2 = T$$

Puede interpretarse ϵ_{tr} como la energía transferida en forma de energía cinética a partículas cargadas en un volumen V, independientemente de cómo luego estas partículas pierden dicha energía.

Definimos el Kerma en punto P del espacio como

$$K = \frac{d\epsilon_{tr}}{dm}$$

donde $d\epsilon_{tr}$ es el valor de expectación de energía transferida a partículas cargadas en un volumen infinitesimal dv centrado en un punto P y de masa dm . Podemos escribir el Kerma en función de la fluencia, o flujo, de fotones mono-energéticos (ψ) sobre un punto P como

$$K = \psi \left(\frac{\mu_{tr}}{\rho} \right)_{E,Z}$$

donde $\left(\frac{\mu_{tr}}{\rho} \right)_{E,Z}$ es el *coeficiente de transferencia masa energía*, Z el número atómico del medio absorbente y E la energía del haz de fotones mono-energéticos.

La energía cinética entregada a un electrón puede ser perdida en dos formas

1. Interacción mediante fuerza de Coulomb con electrones orbitales del material, resultando en excitación o ionización en las cercanías del camino recorrido. A esta interacción se le llama interacción *colisión*.
2. Interacción con el potencial eléctrico de un núcleo atómico del material, resultando en emisión de fotones que llevan su energía fuera del camino recorrido por el electrón. A esta interacción se le llama interacción *radiativa*.

Es entonces conveniente definir al Kerma como la suma de dos términos, un Kerma de colisión K_c responsable de la excitación y ionización de los átomos en las cercanías del camino recorrido por el electrón y un Kerma radiativo K_r atribuible a pérdidas de energía cinética de los electrones al emitir fotones por interacción con núcleos atómicos. Así definido entonces el Kerma sería

$$K = K_c + K_r$$

Podemos definir la cantidad estocástica *energía transferida neta*, ϵ_{tr}^n como

$$\epsilon_{tr}^n = (R_{in})_u - (R_{out})_u^{nonr} - R_u^r + \Sigma Q = \epsilon_{tr} - R_u^r$$

Donde se adiciona un término R_u^r que corresponde a la energía emitida como pérdida radiativa de las partículas cargadas originada en V, sin importar donde ocurre el evento de pérdida radiativa.

Para el caso de ejemplificado en la Figura 1.9 tenemos que el electrón generado en el volumen V pierde de energía de forma radiativa dos veces, una dentro del volumen V y otra fuera del mismo. Entonces la energía neta transferida es

$$\epsilon_{tr}^n = \epsilon_{tr} - (h\nu_3 + h\nu_4)$$

Puede definirse el Kerma de colisión K_c en un punto P como

$$K_c = \frac{d\epsilon_{tr}^n}{dm}$$

donde $d\epsilon_{tr}^n$ es el valor de expectación de energía neta transferida a partículas cargadas en un volumen infinitesimal dv centrado en un punto P y de masa dm . Podemos escribir el Kerma de colisión en función del espectro de fluencia de energía de fotones (Ψ) sobre un punto P como

$$K_c = \int_0^{E_{max}} \Psi(E) \left(\frac{\mu_{en}}{\rho} \right)_{E,Z} dE$$

donde $\left(\frac{\mu_{en}}{\rho} \right)_{E,Z}$ es el *coeficiente de absorción masa energía*, Z el número atómico del medio absorbente y E la energía del haz de fotones mono-energéticos.

5.3. Valor \bar{W}

A fin de precisar el término «equivalente en ionización» utilizado para comparar el Kerma de colisión K_c con la Exposición X , definimos la *energía promedio expendida en un gas para formar un par iónico, \bar{W}* .

Sea T_i la energía del i -ésimo electron puesto en movimiento por rayos X en el volumen de aire dv centrado en un punto P del espacio. Sea g_i la fracción de T_i perdida en interacciones radiativas a lo largo del su recorrido completo, entonces $(1 - g_i)$ es la fracción expendeda en interacciones de colisión. La suma de energía cinética total gastada por todos los electrones en colisión es $\sum T_i (1 - g_i)$.

Sea N_i el número total de pares iónicos generados por el electrón i -ésimo y g'_i la fracción de estos pares generados por interacción radiativa. El número total de pares generados por colisión por todos los electrones es $\sum N_i (1 - g'_i)$.

Asumiendo que la suma se da sobre un gran número de partículas de forma de alcanzar \bar{W} su valor de expectación tenemos que

$$\bar{W} = \frac{\sum T_i (1 - g_i)}{\sum N_i (1 - g'_i)}$$

Entonces por definición \bar{W} no considera energía perdida en forma radiativa, ni pares iónicos formados por estos fotones. En aire seco para rayos X el valor es $\bar{W}_{air} = 33,97 \text{ eV}/i.p.$, puede considerarse como valor constante independientemente de la energía del fotón por encima de un par keV . Dividiendo por la carga del electrón y pasando de eV a J puede expresarse $\frac{\bar{W}_{air}}{e} = 33,97 \text{ J/C}$ lo que resulta más conveniente para relacionar K_c con X . Si expresamos $(K_c)_{air}$ en unidades de J/Kg , tenemos que la Exposición X en C/Kg

$$X = (K_c)_{air} \frac{e}{\bar{W}_{air}} = \frac{(K_c)_{air}}{33,97}$$

También puede expresarse la exposición en función del espectro de fluencia de energía $\Psi(E)$ sobre un punto P del espacio como

$$X = \int_0^{E_{max}} \left(\frac{\mu_{en}}{\rho} \right)_{E,Z} \frac{e}{W_{air}} \Psi(E) dE$$

5.4. Plano sala de tratamiento

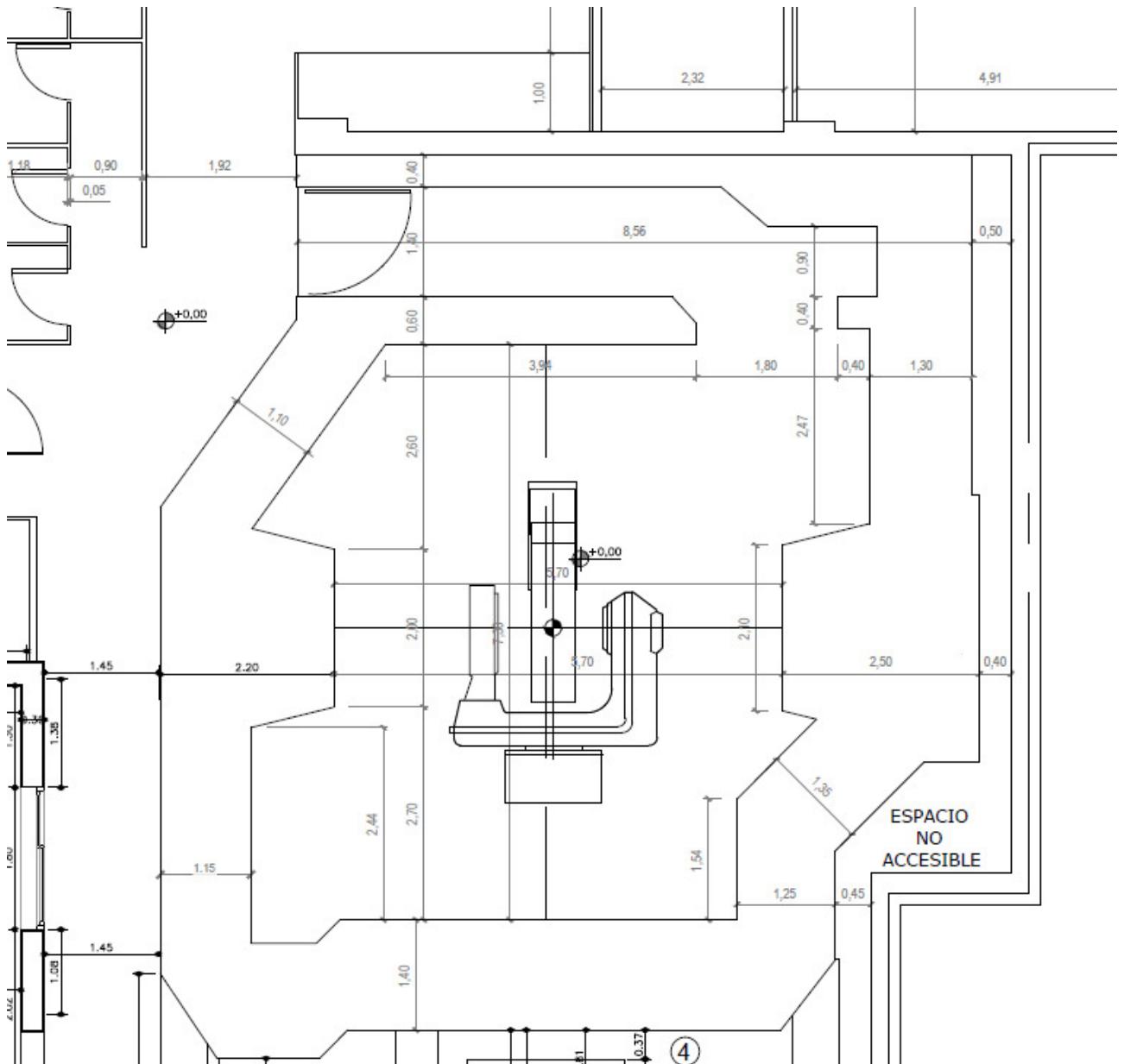


Figura 5.2: Plano de la sala de tratamiento de la Clínica de Radioterapia Dr Reñe.

5.5. Cálculo de incertezas

5.5.1. Incerteza en la entrega de dosis

En la Tabla 5.1 se muestran los valores de dosis en profundidad para el haz de electrones de 12 MeV del Clinac Varian IX.

Dosis [%]	Profundidad [mm]	Profundidad [mm]	Diferencia [mm]
100	30.0	-	-
98	25.7	34.6	8.9
95	21.2	36.6	15.4
92	16.9	38.4	21.5
90	13.7	39.3	25.6

Tabla 5.1: Valores de dosis en profundidad para haz de electrones de 12 MeV.

El diámetro del tubo de ensayo utilizado para las muestras es de 12,3 mm, por lo cual, se decidió ubicarlo a una profundidad igual a la semisuma de las profundidades correspondientes a una dosis del 95 %. Por lo cual, la muestra estará centrada a una profundidad de 28,9 mm en agua y la dosis promedio que recibirá será

$$\bar{D} = \frac{1}{\Delta z} \int D(z) dz \quad (5.1)$$

Donde z es la profundidad en agua. Utilizando la aproximación de $D(z)$ como una función escalonada como se muestra en la Figura 5.3.

El resultado que calcular 5.1 utilizando la aproximación de $D(z)$ como función escalonada es $\bar{D} = 97,17\%$. Dado que parte de la muestra recibe el 100 % y otra parte el 95 % de la dosis máxima, se tomó como incerteza en la dosis a la mayor diferencia entre $|\bar{D} - 95|$ y $|\bar{D} - 100|$. Dando como resultado

$$\bar{D} = (97 \pm 3) \% \quad , [D] = 3,1 \%$$

siendo para el haz de electrones el de mayor incerteza en la dosis. Por otro lado, para el haz de fotones de 15 MeV la muestra recibe entre el 99 % y 100 % de la dosis máxima.

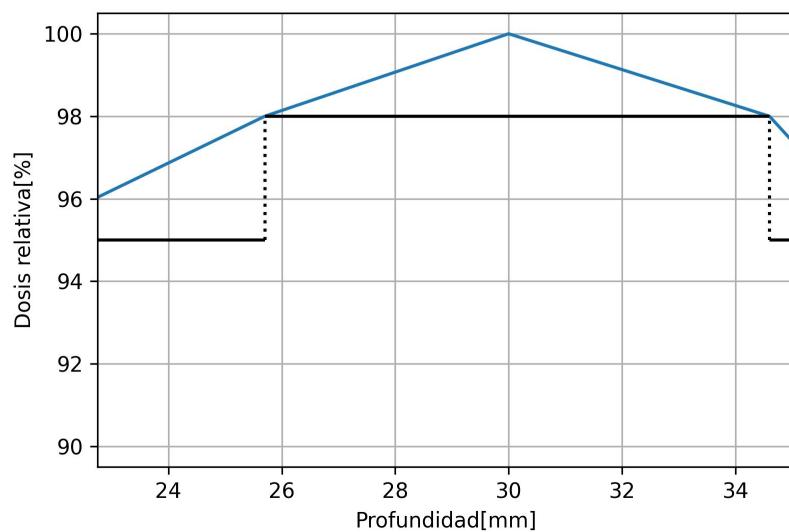


Figura 5.3: Aproximación $D(z)$ como función escalonada (negro) a fin de calcular la dosis promedio \bar{D} a partir de valores (azul) de dosis en profundidad medidos para haz de electrones de 12 MeV.

Bibliografía

- [Alet et al., 2025] Alet, A. I., Porini, S., Riquelme, B. D., Bisio, A., Scifoni, E., and Galassi, M. E. (2025). Effects of ionizing radiations of different qualities and delivery types on blood cells. *Biophysical Reviews*, pages 1–12.
- [Attix, 1986] Attix, F. (1986). *Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry*. A Wiley-Interscience publication. Wiley.
- [Della Rosa et al., 2025] Della Rosa, M., Vena, R., Olazagoitia, J. I., Porini, S., Detarsio, G., Dumont, J. L., Rodriguez, R. E., Galassi, M. E., and Alet, A. I. (2025). Estudio de los efectos de la radiacion con haz de electrones en las celulas sanguineas mediante microscopia confocal. In *XXVII Congreso y XLV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario (SBR)*.
- [Estrada et al., 2020] Estrada, E., Castellini, H., Acosta, A., Tullio, L. D., Borraz, J., Chinelato, A., Tack, I., M.D'Arrigo, Riquelme, B., and Galassi, M. E. (2020). Estudio preliminar de los efectos de las radiaciones gamma sobre los globulos rojos humanos. In *Anales AFA Vol. 31*.
- [Ezequiel Lizandro Estrada, 2021] Ezequiel Lizandro Estrada (2021). Estudio de los efectos de radiaciones ionizantes sobre globulos rojos humanos. Tesina de Licenciatura en Física, FCEIA-UNR.
- [Haubner et al., 2013] Haubner, F., Ohmann, E., Pohl, F., Prantl, L., Strutz, J., and Gassner, H. (2013). Effects of radiation on the expression of adhesion molecules and cytokines in a static model of human dermal microvascular endothelial cells. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 54(4):371–379.
- [IAEA, 2024] IAEA (2024). *Absorbed Dose Determination in External Beam Radiotherapy*.

- [Johns et al., 1983] Johns, H. E., Cunningham, J. R., et al. (1983). The physics of radiology.
- [Knoll, 2010] Knoll, G. F. (2010). *Radiation detection and measurement*. John Wiley & Sons.
- [Limoli and Vozenin, 2023] Limoli, C. L. and Vozenin, M.-C. (2023). Reinventing radiobiology in the light of flash radiotherapy. *Annual review of cancer biology*, 7(1):1–21.
- [Maria Candela Della Rosa, 2025] Maria Candela Della Rosa (2025). Estudio de los efectos de las radiaciones ionizantes sobre la sangre: alteraciones morfológicas y funcionales de eritrocitos. Tesina de Licenciatura en Física, FCEIA-UNR.
- [Podgoršak, 2006] Podgoršak, E. (2006). *Radiation Physics for Medical Physicists*. Biological and Medical Physics Series. Springer.
- [Shin et al., 2009] Shin, S., Yang, Y., and Suh, J.-S. (2009). Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip stirring system by light transmission. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 41(3):197–207.
- [Tan et al., 2020] Tan, J. C., Johnson, L., Aung, H. H., Green, S. M., Linnane, C., Vekariya, S., Waters, L., Webb, R. G., Wood, B. W., and Marks, D. C. (2020). X-and gamma-irradiation have similar effects on the in vitro quality of stored red cell and platelet components. In *2020 Virtual Annual Meeting*. AABB.
- [Veronica Belen Tesaro, 2022] Veronica Belen Tesaro (2022). Deposición de energía de radiación ionizante sobre sistemas de interés biológico. estudio de la estructura de traza de hadrones y aplicaciones en dosimetría para hadronterapia. Tesis Doctoral en Física, UNR y UCBL.
- [Zangouri et al., 2024] Zangouri, V., Roshanshad, A., Ranjbar, A., Izadi, M., Rajaeifar, S., Goodarzi, A., and Nasrollahi, H. (2024). Outcomes and complications of intraoperative radiotherapy versus external beam radiotherapy for early breast cancer. *Cancer Reports*, 7(2):e1950.