

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Escuela de Ingenierías

Departamento de Computación, Electrónica y Mecatrónica



**Dosimetría óptica basada en gel porcino para su
aplicación en la Terapia Fotodinámica a través del
fotosensibilizador PpIX**

Tesis que, para completar los requisitos del Programa de Honores presenta el
estudiante

Leonardo González Olvera

163901

Ingeniería biomédica

Dr. Juan Horacio Espinoza Rodríguez

San Andrés Cholula, Puebla.

Primavera 2023

Hoja de firmas

Tesis que, para completar los requisitos del Programa de Honores presenta el
estudiante **Leonardo González Olvera 163901**

Director de Tesis

Dr. Juan Horacio Espinoza Rodríguez

Presidente de Tesis

Dr. Rubén Alejos Palomares

Secretario de Tesis

Dra. Rocío Salazar Varas

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres que me apoyaron a lo largo de mi vida y carrera, agradezco a mis amigos que me acompañaron a lo largo de este trayecto. Agradezco a mis compañeros de residencia por el apoyo en mis últimos semestres, también agradezco a mi novia que estuvo conmigo en los últimos pasos de mi carrera.

Agradezco al Ing. Roberto Ramírez Calderón y al M.C. Eduardo López Sánchez, asistente y jefe de laboratorio del Departamento de Computación, Electrónica y Computación, respectivamente por el préstamo del equipo y material del almacén necesario para llevar a cabo los experimentos.

Agradezco a mis sinodales, la Dra. Rocío Salazar Varas y el Dr. Rubén Alejos Palomares, por sus puntuales observaciones al presente trabajo de tesis.

Agradezco al IB. Sergio Torre Blanca Guevara y la MBA. Verónica Zarate Zapata, auxiliar y jefe de laboratorios del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas respectivamente, por el resguardo del agente fotosensibilizador PpIX liofilizado, así como el apoyo en materiales y reactivos de micropipeta, agitador magnético, tubos falco, etanol, baño maría, tubo precipitado, balanza y agua desionizada para la preparación del gel dosimétrico.

Agradezco a la Mtra. Thania Andrea Briano Veloz, jefe de laboratorio de Física por el préstamo del termómetro de mercurio, así como pinzas, varilla y soporte universal para la calibración del diodo láser.

Agradezco a la Mtra. Tania Jenise Muñoz Sánchez, y la Dra. María Teresa Jiménez Munguía, jefe de laboratorios y director académico de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, respectivamente por la donación del glutaraldehído, el cual fue primordial para entrecruzar el gel dosimétrico.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 Antecedentes.....	11
1.2 Justificación del problema.....	13
1.3 Hipótesis.....	13
1.4 Objetivos.....	14
1.4.1 Objetivo General.....	14
1.4.2 Objetivos Específicos.....	14
2 MARCO TEÓRICO	15
2.1 Interacción de la luz visible con la materia.....	15
2.2 La Terapia Fotodinámica como una modalidad emergente contra el cáncer.....	16
2.3 Mecanismo del fotosensibilizador PpIX ante luz visible.....	17
2.4 Dosimetría óptica mediante polímero en gel.....	19
2.5 Técnicas de Imágenes para la lectura de dosímetros en gel.....	22
2.6 La Termografía Infrarrojo como novedosa técnica de imagen.....	23
3 MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1 Preparación del gel dosimétrico.....	25
3.1.1 Materiales,.....	25
3.1.2 Consideraciones para la preparación del gel dosimétrico.....	27
3.1.3 Protocolo para la elaboración del gel.....	28
3.2 Incorporación del agente fotosensibilizador PpIX al gel porcino.....	31
3.3 Calibración del láser de 635 nm.....	32
3.4 Fantoma dosimétrico: gel porcino, caja petric y celdillas de poliestireno.....	33
3.5 Calibración e irradiación del gel dosimétrico porcino.....	34
3.6 Lectura del gel dosimétrico por imagen de termografía infrarroja.....	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1 Síntesis del gel dosimétrico con/sin el agente fotosensibilizador PpIX.....	38
4.2. Calibración del dosímetro de gel porcina como función de la dosis de radiación mediante Termografía Infrarroja.....	39

4.3. Estimación experimental del factor de incremento de dosis en función de gradientes de temperatura.....	42
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	44
5.1. Conclusiones.....	44
5.2. Recomendaciones.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporciones de reactivos para el gel dosimétrico.....	28
Tabla 2. Dosis y tiempo de irradiación.....	32
Tabla 3. Cantidades de reactivos para dos geles dosimétricos.....	38
Tabla 4. Incremento en el gradiente de temperatura (ΔT) como función de la dosis absorbida para el gel dosimétrico sin PpIX.....	40
Tabla 5. Incremento en el gradiente de temperatura (ΔT) como función de la dosis absorbida para el gel dosimétrico con PpIX.....	41
Tabla 6. Factores de incremento de dosis (k) estimados mediante el gradiente de temperatura (ΔT) del gel dosimétrico con PpIX respecto sin PpIX.....	43
Tabla 7. Factores de incremento de dosis (k), incluyendo las dosis de radiación de 60 y 100 J/cm ²	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de una onda electromagnética.....	15
Figura 2. Distribución del espectro electromagnético de acuerdo a su rango de frecuencia y longitud de onda característica.....	16
Figura 3. Mecanismo de fotoactivación de un fármaco fotosensibilizante.....	18
Figura 4. Espectro de emisión fluorescente como función de la longitud de onda de la molécula PpIX.	19
Figure 5. Reacción de entrecruzamiento de la gelatina con glutaraldehído.....	21
Figure 6. Modalidades de imágenes médicas empleadas dentro del espectro electromagnético.....	23
Figura 7. Tabla resumen de registro de temperatura para ambos tipos de pacientes (lado izquierdo). Imagen representativa de estos gradientes de temperatura tomada por una cámara FLIR (lado derecho).....	24
Figure 8. (A) Valores arbitrarios radiométricos emitidos en cada pixel. (B) Correspondencia en escala de temperatura de los datos radiométricos. (C) Representación de temperatura en un canal de infrarrojo (color falso).....	24
Figura 9. Gelatina de piel porcina 300 G Sigma Aldrich.....	25
Figura 10. Intralípido en emulsión 20% Sigma Aldrich.....	25
Figura 11. ZnPpIX Multipore Corp.....	26
Figura 12. Dilución del Glutaraldehído al 1% en solución acuosa.....	26
Figura 13. Etanol Meyer de grado 96.....	26
Figura 14. Preparación de soluciones de intralípido (izquierda) y glutaraldehído (derecha).....	29
Figura 15. Preparación de gel porcina con agua destilada a 70°C.	29
Figura 16. Agitación constante del gel porcino mediante una parrilla con temperatura de 65°C -70°C.....	30

Figura 17. Incorporación del intralipido al 1% mediante una parrilla con temperatura entre 65°C y 70°C, y en agitación constante.....	30
Figura 18. Incorporación del glutaraldehído al 1% mediante una parrilla con temperatura de 40°C, y en agitación vigorosa.....	31
Figura 19. Preparación de la solución de PpIX.....	31
Figura 20. Arreglo experimental para la calibración del láser de 635 nm.....	33
Figura 21. Modelo del fantoma propuesto previo a la incorporación del gel porcino.....	33
Figura 22. Modelo de irradiación del fantoma dosimétrico. Irradiación del volumen hipotético (Izquierda), irradiación individualizada de las muestras de calibración (circundantes al Pyrex).....	34
Figura 23. (a) Cámara termográfica FLIR E8-XT. (b) Software FLIR Thermal Studio para el análisis de gradientes de temperatura en las muestras dosimétricas de interés.....	35
Figura 24. Arreglo demostrativo para un experimento (n=1).....	36
Figura 25. Fantoma a base de solo gel y fantoma a base de PpIX y gel.....	38
Figura 26. Imagen de la TIR de las muestras de gel porcino del fantoma compuesto por el Pyrex de vidrio y las celdillas de poliestireno.....	39
Figura 27. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico (sin PpIX).....	40
Figura 28. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico con PpIX a una concentración de 1 mM.....	41
Figura 29. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico con y sin el agente PpIX.....	42
Figura 30. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico con y sin el agente PpIX, incluyendo las dosis de radiación de 60 y 100 J/cm ²	51

RESUMEN

La Terapia Fotodinámica (PDT) es un tratamiento emergente que combina la longitud de onda específica de un láser con un fármaco (fotosensibilizador), diseñado para destruir las células cancerígenas después de la activación por el láser. Si se deseara implementar tratamientos de la PDT en la práctica clínica, es necesario contar con un método confiable de verificación dosimétrica previo al tratamiento del paciente, puesto que el resultado exitoso de la PDT depende de la administración precisa de la dosis fotodinámica prescrita. Por otra parte, dosímetros basados en gel son ampliamente usados para medir las distribuciones de dosis con mayor precisión en 3D en el campo de la radioterapia (uso de la radiación ionizante para erradicar células cancerígenas), ya que estos dosímetros son biomateriales radiológicamente equivalentes que emulan la densidad y viscosidad del tejido corporal.

Por lo anterior, en el presente trabajo de tesis se propone un dosímetro a base de gel porcino con propiedad dispersante (emulsión de intralípidos para emular la piel humana), en el cual es incrustado un volumen tumoral hipotético que está compuesto por el gel dispersante dopado con el fotosensibilizador PpIX (propiedad absorbente), cuya longitud de onda de excitación es de 635 nm. Posteriormente, la respuesta del “tratamiento” (gel dosimétrico con PpIX) es cuantificada con respecto al gel dosimétrico sin PpIX por la modalidad de imagen de Termografía Infrarrojo (TIR), en donde el análisis de la relación dosis-respuesta para determinar los factores de incremento de dosis (k) fueron de 1.83, 1.40 y 1.00 para las dosis de irradiación de 15, 30 y 45 J/cm², las cuales comprenden la dosis estándar (37 J/cm²) empleada para tratamientos PDT. Los resultados demuestran evidencia del posible uso potencial del gel dosimétrico en la Terapia Fotodinámica para medir el incremento de la dosis causada por el agente fotosensibilizador PpIX.

Palabras claves: Terapia Fotodinámica, Fotosensibilizador PpIX, Dosimetría, Gel dosimétrico, Termografía Infrarrojo.

ABSTRACT

Photodynamic Therapy (PDT) is an emerging treatment that combines the specific wavelength of a laser with a drug (photosensitizer) designed to kill cancer cells after activation by the laser. If it is desired to implement PDT treatments in clinical practice, it is necessary to have a reliable method of dosimetric verification prior to patient treatment, since the successful outcome of PDT depends on the precise administration of the prescribed photodynamic dose. On the other hand, gel-based dosimeters are widely used to measure dose distributions with greater precision in 3D in the field of radiotherapy (use of ionizing radiation to eradicate cancer cells), since these dosimeters are radiologically equivalent biomaterials that emulate the density and viscosity of body tissue.

Therefore, in this thesis work a porcine gel-based dosimeter with scattering properties (intralipid emulsion to emulate human skin) is proposed, in which a hypothetical tumor volume is embedded that is composed by gel doping with PpIX photosensitizer (absorbing property), whose excitation wavelength is at 635 nm. Subsequently, the response of the "treatment" (dosimetric gel with PpIX) is quantified with respect to the dosimetric gel without PpIX by the imaging modality of Infrared Thermography (TIR), where the analysis of the dose-response relationship to determine the dose enhancement factors (k) were 1.83, 1.40 and 1.00 for the irradiation doses of 15, 30 and 45 J/cm², which comprise the standard dose (37 J/cm²) used for PDT treatments. The results demonstrate evidence of the possible potential use of the dosimetric gel in Photodynamic Therapy to measure the dose enhancement caused by the photosensitizing agent PpIX.

Keywords: Photodynamic Therapy, Dosimetry, PpIX Photosensitizer, Dosimetric Gel, Infrared Thermography.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

La Terapia Fotodinámica (abreviada como PDT por sus siglas en inglés de *Photodynamic Therapy*) es un tratamiento de fototerapia en el cual intervienen dos componentes no tóxicos: el agente fotosensitizador (PS), el cual es el encargado de marcar células o tejidos, y el segundo representa la administración de luz a una longitud de onda específica para activar al agente fotosensitizador (Hyun Yun & J. J. Kwok, 2017).

La PDT se ha estudiado desde hace varias décadas, de hecho, el primer registro sobre esta terapia data alrededor del año 1900 en donde Oskar Raab y Hermann Von Tappeiner notaron que los paramecios (microorganismos acuáticos) teñidos con acridina naranja (un marcador fluorescente) murieron ante la exposición de una zona muy iluminada. Con ello en mente, Von Tappeiner propuso la PDT como método de tratamiento para el carcinoma de piel. Eventualmente, la PDT fue olvidada tras un premio nobel en 1903 y posteriormente fue redescubierta en los años setenta (Ramón-Gallegos, Reyes-Arellano, Olvera-Ramírez, & Cruz-Orea, 1999).

Actualmente, se sabe que la PDT ha mostrado efectividad en el tratamiento de condiciones benignas y malignas como cáncer pulmonar, mesotelioma, tumores cerebrales y de próstata. Con los avances en las últimas dos décadas se ha mejorado la tecnología relacionada a la PDT y se ha comprendido de mejor manera los biomecanismos físicos al realizar el tratamiento. Debido a estos avances surgieron nuevas incógnitas acerca de las condiciones que participan en la efectividad del tratamiento. De acuerdo con Zhu y Finlay (2008), proponen las siguientes categorías:

- Fuentes de luz, transporte de la luz y entrega de la luz al tejido

- Dosimetría en la PDT
- Imagenología óptica y anatómica
- Nuevos agentes fotosensibilizadores
- La biología de la PDT

Cada una de estas categorías son importantes para determinar el desempeño de la terapia, sin embargo, nuestra visión se enfocará en la dosimetría de la PDT. Esto es relevante ya que permitirá el conocimiento de la cantidad de dosis necesaria previa al tratamiento del paciente, lo cual prevendrá el uso excesivo de dosis o la falta de esta misma (Zhu & Finlay, 2008). Si se deseara implementar tratamientos de la PDT en la práctica clínica, es necesario contar con un método confiable de verificación dosimétrica previo al tratamiento del paciente (Hasan et al., 2003; Kim et al., 2020), pues el resultado exitoso de la PDT depende de la administración precisa de la dosis fotodinámica prescrita por el médico oncólogo, por lo que es necesario un protocolo de control de calidad para garantizar que la dosis de luz depositada sea la correcta (Zhu & Finlay, 2008; Dimofte et al., 2018). Actualmente no existen estándares de control de calidad bien establecidos para garantizar la energía radiante recibida por una unidad de área superficial (J/cm^2) (Dimofte et al., 2018).

Por lo que, en el presente trabajo de tesis se muestran resultados experimentales de la incorporación del fotosensibilizador PpIX en dosímetros de gel basados en piel porcina, con la finalidad de hacer hincapié en el uso potencial de los dosímetros en gel en la PDT. Para ello, el aumento de la dosis fue evaluado con la irradiación de los dosímetros *con* y *sin* PpIX mediante un diodo láser de 635 nm de longitud de onda. Lo anterior, para observar su respuesta dosimétrica ante el estímulo del agente fotosensibilizador PpIX.

1.2. Justificación del Problema

La mayoría de los procedimientos clínicos de la Terapia Fotodinámica se han realizado mediante una concentración predefinida de un agente fotosensibilizador, una fuente de luz especialmente seleccionada (excitación del agente), intervalos de tiempo fijos (entre la administración del agente fotosensibilizante y la irradiación con luz), y el tiempo de exposición requerido con una irradiación de luz incidente fija (Buzalewicz et al., 2017).

Sin embargo, es necesario establecer un protocolo de dosimetría PDT sistemático en relación con la dosis de luz (densidad de potencia y tiempo de exposición), de acuerdo con la Asociación Americana de Físicos en Medicina (AAPM), se ha establecido el requerimiento de una precisión dosimétrica para la PDT de un $\pm 5\%$ con una frecuencia de dos años para su respectiva calibración de dosimetría en dichos tratamientos (Santos & Souza, 2019). Lo anterior, implica que la dosis de luz que será depositada en el paciente sea la correcta para garantizar el tratamiento. Por ello, es que se requiere de un protocolo basado en dosímetros con propiedades cercanas al tejido cutáneo que respondan a una fotoestimulación y, posteriormente, requieran un método de lectura accesible para la correlación de dosis-respuesta de los mismos, los cuales ayudarían a aproximarse a los estándares establecidos por la AAPM.

1.3. Hipótesis

Es posible obtener una respuesta dosimétrica a través de un fantoma basado en gel porcino, cuando este es sometido a un rango de dosis estándar de la Terapia Fotodinámica (PDT), lo que contribuye a que este tipo de dosímetros puedan ser atractivos para el control de calidad de tratamientos de la PDT.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Evaluar el gel porcino como un potencial dosímetro para efectuar mediciones aplicables a la Terapia Fotodinámica mediante un fotosensibilizador activado por un láser terapéutico de 635 nm.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Preparar gel dosimétrico de piel porcina con carácter dispersante que replique las propiedades tisulares.
- Calibrar un láser de 635 nm para la determinación de la irradiancia de exposición emitida por la fuente.
- Incorporar el agente fotosensibilizador PpIX al gel dosimétrico basado en piel porcina con carácter dispersante.
- Irradiar el gel dosimétrico dopado con PpIX a diferentes dosis fotodinámicas.
- Evaluar la respuesta dosimétrica del gel dopado por medio de una modalidad de imagen médica.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Interacción de la luz visible con la materia

La luz se define como la radiación electromagnética a la que el ojo puede percibir. Esta radiación tiene el comportamiento de dos ondas mecánicas debido a la presencia del campo eléctrico y el campo magnético (Resnick, Halliday & S. Krane, 2009). Por lo tanto, cuenta con picos, valles, frecuencia y longitud de onda. En la figura 1 podemos apreciar de mejor manera los componentes de una onda electromagnética, los cuales son el vector \vec{B} como campo magnético, el vector \vec{E} como el campo eléctrico, mientras que la velocidad mecánica de esta onda es c o también conocida como la velocidad de la luz.

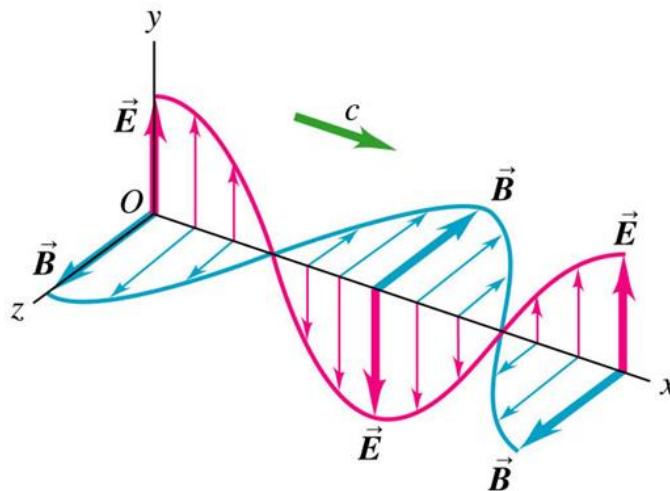


Fig. 1. Ilustración de una onda electromagnética (Correa, 2014).

Recordando que estas ondas cuentan con una frecuencia (f) y longitud de onda (λ), hay que considerar que tienen distintas dimensiones de energía variando conforme la magnitud de estas dos características. Por ello, se utiliza el diagrama de espectro electromagnético, en el cual se detalla la frecuencia de las diferentes ondas electromagnéticas que son clasificadas en 8 categorías diferentes, dependiendo de su longitud de onda: ondas

de radio, microondas, infrarrojo, luz visible, ultravioleta, rayos X, rayos gamma y rayos cósmicos (Tippens, 2011). Siendo las ondas de radio y rayos cósmicos, las radiaciones de menor y mayor energía del espectro electromagnético, respectivamente. Esto se puede ver de manera gráfica en la figura 2.

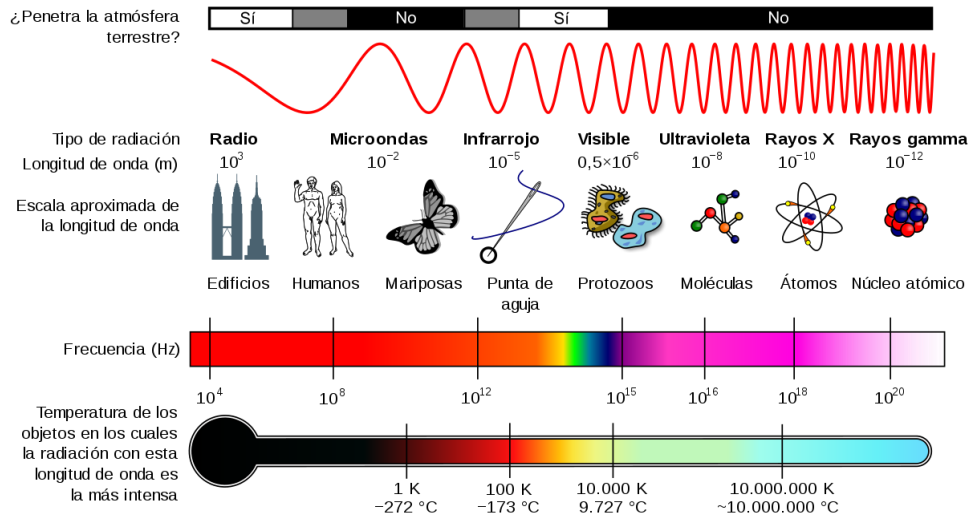


Fig. 2. Distribución del espectro electromagnético, de acuerdo a su rango de frecuencia y longitud de onda característica.

En el caso particular de la luz visible, el espectro que somos capaces de percibir se encuentra en un rango de 400 nm (luz violeta) a 700 nm (luz roja).

2.2 La Terapia Fotodinámica como una modalidad emergente contra el cáncer

La PDT es un método mínimamente invasivo y efectivo para tratar cánceres, enfermedades de la piel e infecciones utilizando agentes fotosensibilizantes, luz y oxígeno (J Dougherty et al ,1998). La PDT ha sido aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos

(FDA, por sus siglas en inglés), ya que cuenta con varias ventajas, como ser mínimamente invasiva, altamente específica para tejidos objetivo y tener menos efectos secundarios sistémicos en comparación con tratamientos tradicionales como cirugía, quimioterapia o radioterapia. La PDT implica la aplicación de un agente fotosensibilizante en el área afectada seguida por iluminación con luz visible de una longitud de onda específica que activa al agente y da como resultado la producción selectiva de especies reactivas del oxígeno que destruyen las células objetivo (Shi, Yang Zhang, Gao, & Wang, 2019).

Cuando se trata de las dosis de agente fotosensibilizante en PDT, generalmente se habla del peso corporal del paciente, tipo y fase del cáncer a ser tratado. El fotosensibilizador suele ser suministrado en forma de ALA-5 a una concentración que varía dependiendo del tumor (el cual normalmente es 20 mg/kg), aunque se ha reportado que se proporciona una concentración que oscila en el orden de μM a mM. También se ha reportado que el inicio de muerte celular suele ocurrir desde los 1.5 nM (Schary, Novak, Kämper, Yousf, & Lübbert, 2022), aunque por medio de ensayos clínicos se ha registrado el uso de 5 μM como una concentración nominal para este tipo de pruebas (Nowis et al., 2008). De igual manera, la luz varía de intensidad, aunque en los ensayos clínicos es usual el encontrarse con una dosis de 37 J/cm² (Kawcyk-Krupka et al., 2015).

2.3 Mecanismo del PpIX con luz visible

El mecanismo de la terapia fotodinámica requiere de la administración del agente fotosensibilizante hacia el paciente, el cual empieza a acumularse dentro de las células objetivo. Una vez que el PS se ha acumulado, se le aplica luz visible al área de interés. Esta dosis de luz activa al agente fotosensibilizante, lo que provoca la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que dañan o eliminan las células cancerosas, como se puede ver en la figura 3. La luz visible es crucial para la PDT ya que, dependiendo de la longitud de onda de la luz, aumenta o disminuye la profundidad a la que incide la luz al tejido. De igual manera, si se utiliza una longitud de onda inapropiada para el PS, este mismo no se activará.

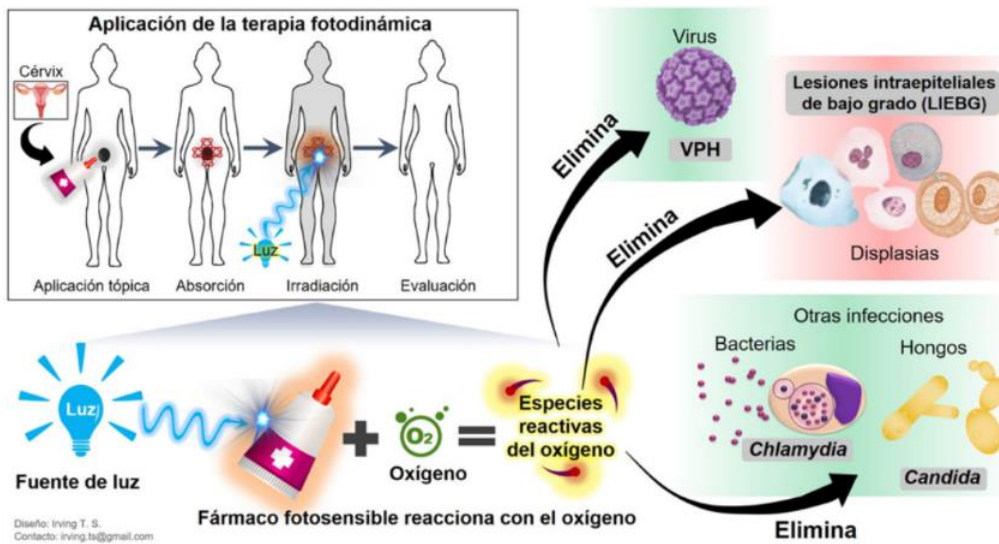


Fig. 3. Mecanismo de fotoactivación de un fármaco fotosensibilizante (Gallegos,2019).

Un agente fotosensibilizante que es utilizado frecuentemente en la PDT dermatológica (Morton et al., 2013) es la protoporfirina IX o también conocido como PpIX. Una crema tópica es usada porque contiene un precursor pequeño y soluble de PpIX (ácido 5-aminolevulínico (ALA)), esto debido a que el PpIX es relativamente grande (~562.658 g/mol) e insoluble en agua (~1 µg/mL) (Taylor & Brown, 2002). El precursor de PpIX se absorbe y se convierte enzimáticamente en PpIX durante aproximadamente tres horas, mediante la vía de biosíntesis del grupo hemo presente de forma natural en todas las células (Tyrrell et al., 2019). Las células neoplásicas (tumor benigno o maligno) acumulan más PpIX rápidamente que las células normales, porque su biosíntesis de hemo es elevada o está menos controlada, y esto crea una ventana de tratamiento relativamente selectiva en la que se puede aplicar irradiación de 635 nm para activar la PpIX (Taylor & Brown, 2002; Tyrrell et al., 2019). En la Figura 4 se muestra que la emisión fluorescente de la PpIX (fotoactivación) es más eficiente alrededor de 635 nm.

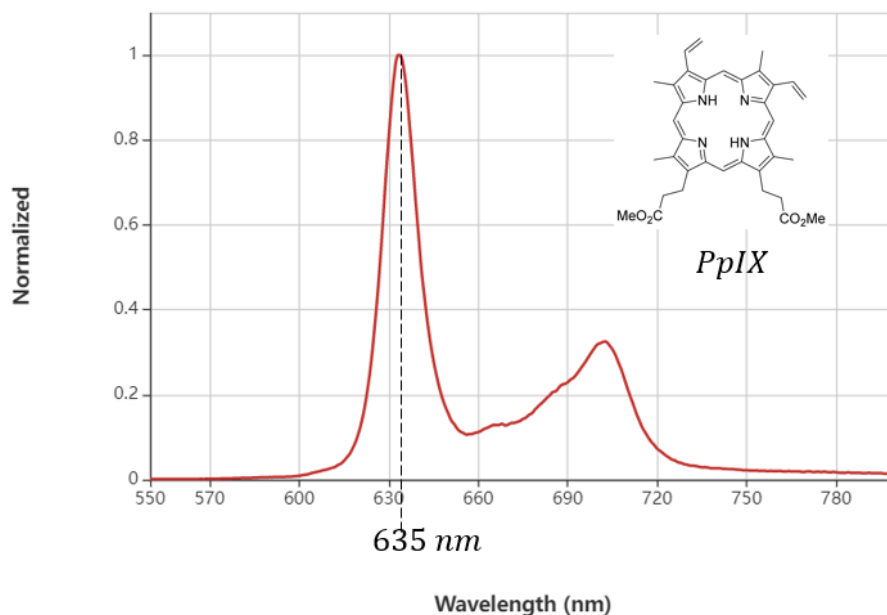


Fig. 4. Espectro de emisión fluorescente como función de la longitud de onda de la molécula PpIX. Imagen extraída y modificada de PhotochemCADTM (Lindsey et al, (1998-2023)).

De hecho, cuando la PpIX se expone a esta longitud de onda (635 nm) correspondiente a luz roja, esta se activa produciendo las ROS mencionadas anteriormente (Alsaab et al., 2020). Además del mecanismo tradicional de agente fotosensibilizante, la PpIX tiene un mecanismo adicional, en donde se aprovecha la fluorescencia usando PpIX, ya que con este se pueden realizar imágenes que permiten la visualización no invasiva del tejido canceroso durante cirugías o procedimientos de biopsia. Esta técnica ha demostrado mejorar la precisión en la detección de cáncer al mismo tiempo que reduce la morbilidad asociada con una eliminación innecesaria del tejido (Imran, Ramzan, Qureshi, Khan, & Tariq, 2018).

2.4 Dosimetría óptica mediante polímero en gel

Los dosímetros de gel polimérico han surgido como una opción potencial para la garantía de calidad en la radioterapia debido a sus propiedades únicas. Estos dosímetros consisten en una matriz de gel, típicamente hecha de ácido poliacrílico o agarosa, que contiene monómeros

mono- o polifuncionales y moléculas sensibles a la radiación como agentes de contraste, Fricke o radiográficos. Los dosímetros de gel polimérico funcionan como detectores tridimensionales de radiación que pueden registrar la intensidad y distribución del volumen irradiado absorbido por las células (Zhu & Finlay, 2008). La cantidad absorbida causa una reacción química dentro del gel, lo que resulta en cambios en sus propiedades físicas y químicas que se pueden cuantificar mediante métodos de imagen.

La ventaja de la dosimetría óptica con gel polímero es la capacidad de obtener imágenes de alta resolución en 3D de la distribución de dosis radiación, lo cual no es posible con técnicas convencionales, como lo sería un dosímetro termoluminiscente (TLD). Esto hace que la dosimetría óptica con gel polímero sea una herramienta importante para evaluar los planes de tratamiento y garantizar que la radioterapia se entregue con precisión al objetivo previsto mientras se minimiza la dosis a los tejidos sanos de los alrededores. Además, los dosímetros con gel polímero tienen propiedades equivalentes al tejido, lo que significa que imitan las respuestas a radiaciones en los tejidos humanos (Barreto Requena, et al, 2019). Esto permite mediciones y evaluaciones precisas del nivel real efectivo sobre células humanas, tejidos u órganos.

La composición de los geles dosimétricos comparte una serie de componentes para habilitar su función, los cuales pueden variar entre sí dependiendo de las necesidades de la dosimetría (Pogue & Patterson, 2006). La lista de componentes es la siguiente:

- Una matriz de gel basada en polímeros como lo puede ser ácido poliacrílico, agarosa o gelatina. Esto es debido a las propiedades de los polímeros, como lo son su flexibilidad, fuerza y rigidez; además de que son solubles en agua, biocompatibles y se pueden entrecruzar para formar una red tridimensional estable.
- Un entrecruzador (*crosslinker*) con la finalidad de proporcionar capacidades de estabilidad al gel, como puede ser el aumentar aún más la rigidez del gel, el tiempo que tarda en deteriorarse o inclusive la temperatura de fusión. Puesto que la gelatina se degrada rápidamente bajo condiciones fisiológicas, la estabilidad de la gelatina puede ser mejorada a través de entrecruzadores químicos. Una variedad de entrecruzadores de gelatina han sido reportados. Glutaraldehído es uno de los más

ampliamente usados debido que este reacciona rápidamente con los grupos amina (Ver Figura 5) en la gelatina, adicional que es relativamente económico. (Imani et al, 2013).

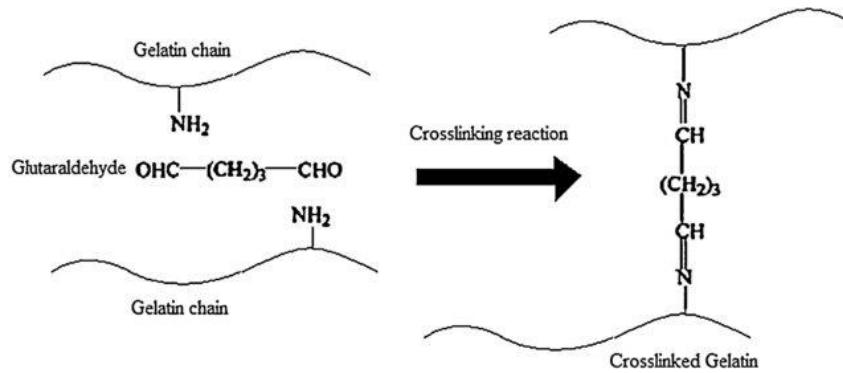


Figura 5. Reacción de entrecruzamiento de la gelatina con glutaraldehído. (Imani et al, 2013).

- Un agente dispersante, que se encarga de distribuir (homogenizar) la radiación de manera más uniforme a lo largo del gel dosimétrico. Esto es más frecuente en dosímetros ópticos ya que otros tipos de radiación tienden a tener un mayor alcance en la profundidad. Existen tres opciones comúnmente usadas como emulsiones dispersantes; lípidos, polvos de óxido de aluminio o titanio y microesferas poliméricas. (Pogue & Patterson, 2006).
- Un agente absorbente, el cual varía de su aplicación, desde hemoglobina y glóbulos rojos para simulación biológica, hasta fluoróforos moleculares (por ejemplo, la PpIX). La inclusión de estos agentes ha demostrado ser valioso para la formación de un fantoma, pues son de utilidad al momento de: validar un sistema de imagen médico (verificar contraste), y calibrar un equipo de espectroscopia, fluorescencia de una tinción (Pogue & Patterson, 2006).

2.5 Técnicas de imagen para la lectura de geles dosimétricos

Las técnicas de imagen de dosimetría son importantes dentro de tratamientos de esta clase, ya que cuentan con capacidades de medición en tiempo real y son no invasivas. Estas técnicas juegan un papel esencial en la radioterapia para el tratamiento del cáncer, ya que permiten a los profesionales de la salud monitorear la dosis de radiación administrada al paciente y realizar ajustes necesarios para garantizar que el tumor reciba la cantidad adecuada de radiación.

Las técnicas de imagen para dosimetría óptica utilizan fibras, sondas o cámaras ópticas para medir la distribución de la intensidad lumínica en el tejido. Esta información se puede utilizar luego para calcular la cantidad de radiación absorbida por el tejido y proporcionar retroalimentación para los técnicos o especialistas para recalibración del equipo u otras mejoras. Estas técnicas de imagen son particularmente útiles en áreas donde otras modalidades como tomografía computarizada (CT) o imagen por resonancia magnética (MRI) pueden no ser adecuadas debido a su precio, tiempo de obtención de imagen o inclusive la disponibilidad del equipo dentro de la clínica/hospital (Greene, 2004).

Una técnica común se llama tomografía por coherencia óptica (OCT, por sus siglas en inglés), que genera imágenes detalladas de los tejidos biológicos con una resolución micrométrica la cual utiliza luz infrarroja. OCT ha sido empleada en diversas aplicaciones médicas incluyendo oftalmología, cardiología, oncología y ha mostrado resultados muy positivos (Wang, Kirkpatrick, & Hinds, 2007).

Otra herramienta prometedora es la tomografía mediada por fluorescencia (FMT), que implica suministrar sondas fluorescentes al cuerpo que se unen selectivamente a las células diana asociadas con el crecimiento del cáncer. Una vez iluminados por una fuente láser, estos fluoróforos emiten fotones que pueden detectarse mediante detectores sensibles colocados en superficies externas alrededor del cuerpo de los pacientes lo que proporciona información valiosa sobre la estructura anatómica y la actividad metabólica (Stuker, Ripoll, & Rudin, 2011).

2.6 La Termografía Infrarrojo como modalidad de imagen médica

La Termografía es una técnica de diagnóstico por imágenes médicas no invasiva que utiliza una cámara infrarroja para capturar la distribución de temperatura de las partes del cuerpo humano. A diferencia de otras técnicas de imagenología médica, como los rayos X y la resonancia magnética, la termografía no expone a los pacientes a radiación ionizante ni involucra el contacto con sustancias potencialmente dañinas (Ver Figura 6).

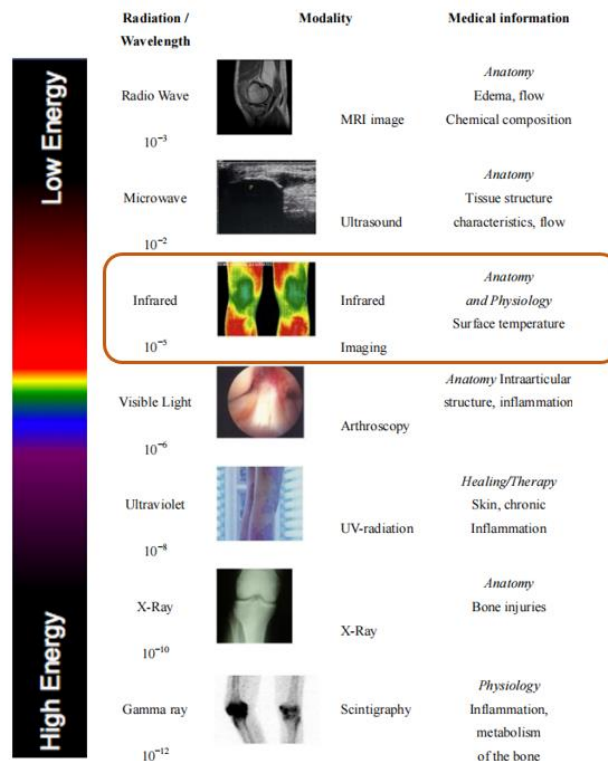


Figura 6. Modalidades de imágenes médicas empleadas dentro del espectro electromagnético. (Hildebrandt et al, 2010).

Este método ha demostrado ser efectivo para detectar una amplia gama de condiciones, incluyendo cáncer de mama, artritis y daño a los nervios (Rohrbach et al, 2014). Por ejemplo, (Tan et al, 2020) reportaron que, es posible diferenciar la Artritis Reumatoide de pacientes saludables con la Termografía Infrarroja, cuando hay una diferencia de temperatura de ambos pacientes de 1.5°C. En la Figura compuesta 7 se aprecia cómo la inflamación produce calor, y la termografía puede ser potencialmente útil para detectar estos gradientes de temperatura articulares para la detección de la artritis reumatoide.

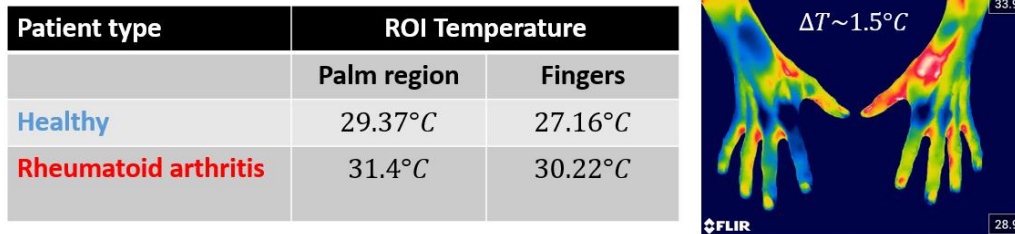


Figura 7. Tabla resumen de registro de temperatura para ambos tipos de pacientes (lado izquierdo). Imagen representativa de estos gradientes de temperatura tomada por una cámara FLIR (lado derecho). Datos obtenidos y modificados de (Tan et al, 2020).

Las medidas radiométricas (emisividad térmica y radiancia espectral de las regiones de estudio) adquiridas por una cámara Termográfica IR se convierten a valores de temperatura en las unidades (grados Celsius). Por último, se puede definir un mapa de colores en el que a cada valor de temperatura se le asigna un valor de color, lo que permite visualizar gráficamente los datos como una imagen térmica en color falso. Ver Figura 8.

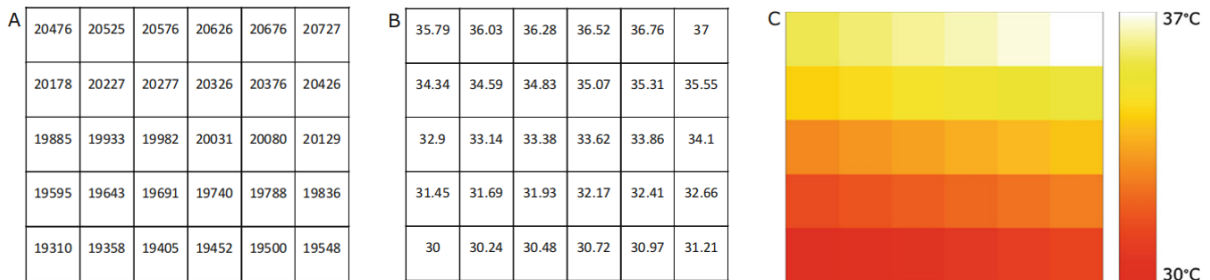


Figura 8. (A) Valores arbitrarios radiométricos emitidos en cada pixel. (B) Correspondencia en escala de temperatura de los datos radiométricos. (C) Representación de temperatura en un canal de infrarrojo (color falso) (Law et al, 2018).

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Preparación del gel porcino

3.1.1 Materiales

Reactivos utilizados:

- Gelatina de piel porcina 300 G Tipo A (Sigma Aldrich)



Figura 9. Gelatina de piel porcina 300 G Sigma Aldrich.

- Intralípido en emulsión al 20% (Sigma Aldrich)



Figura 10. Intralípido en emulsión 20% Sigma Aldrich

- Zinc (II) Protoporfirina IX (Multipore Corp)



Figura 11. ZnPpIX Multipore Corp.

- Agua destilada (Hercotec)
- Glutaraldehído en solución al 25% (Sigma Aldrich)



Figura 12. Dilución del Glutaraldehído al 1% en solución acuosa.

- Etanol 96% (Meyer)



Figura 13. Etanol Meyer de grado 96.

Instrumental de laboratorio:

- 1 vaso de precipitados de 1 L
- 1 parrilla con termoagitador
- 1 termómetro de 100°C
- 1 probeta de 50 ml
- 1 recipiente de baño maría
- 1 agitador magnético
- 2 cajas peltric Pyrex 60 mm x 90 mm
- 2 frascos Falco de 15 ml
- 1 frasco Falco de 50 ml
- Mezclador Vortex (Labnet)

Equipo de irradiación:

- Controlador de pantalla táctil Ocean LED de un solo canal para la línea de productos LSM LED.
- Módulo de fuente de luz individual a 635 nm de longitud de onda.

3.1.2 Consideraciones para la preparación del gel dosimétrico

Para el gel se tomó en consideración varios puntos importantes:

- La solubilidad del reactivo para la matriz tridimensional, en este caso se consideró el uso de gelatina porcina debido a que ya se ha reportado que es utilizada normalmente para imagenología por ultrasonido, resonancia magnética y espectroscopía óptica (McGarry y col., 2020). Además de estas ventajas, se eligió el uso de este tipo de fantomas ya que su producción es barata y se puede modular de mejor manera la cantidad de aditivos al fantoma completo.
- El uso de glutaraldehído (GTA) como agente entrecruzador ya que los fantomas que son hechos a base de gelatina requieren de un refuerzo de resistencia mecánica y térmica. En donde uno de los agentes más usados es el

GTA debido a su alta efectividad de estabilización de materiales basados en colágeno (Bigi, Cojazzi, Panzavolta, Rubini, & Roveri, 2001).

- El PpIX presenta una baja solubilidad con el agua (~1 µg/mL) que puede afectar a la efectividad del tratamiento cuando se añade a un entorno acuoso (Jiang et al., 2015). Por lo que se preparó una concentración con un solvente hidrofóbico (etanol con una solubilidad de 10 mg/mL) para poder solubilizar el agente fotosensibilizante (Zhang, Zhang, & Zhou, 2023).

3.1.3 Protocolo para la elaboración del gel

Una vez considerados estos puntos, se adaptó el protocolo con base a dos artículos, el primero se basa en el uso de genipina y gelatina (Chun-Hsu, Bai-Shuan, Chen-Jung, Shan-Hui, & Yueh-Sheng, 2004), y el otro se enfoca en la producción de un gel para su análisis en imagenología (Saiko & Douplik, 2020).

El protocolo definido para este trabajo se resume en los siguientes pasos:

1. Para calcular las cantidades de reactivos para el gel se consideraron los siguientes porcentajes:

Reactivo	Porcentaje
Agua destilada	88%
Intralípido al 1%	1%
Glutaraldehído al 1%	1%
Gelatina porcina	10%

Tabla 1. Proporciones de reactivos para el gel dosimétrico.

2. Para los reactivos de intralípido y glutaraldehído se prepararon en una solución a una concentración de 1%.



Figura 14. Preparación de soluciones de intralípido (izquierda) y glutaraldehído (derecha).

3. Por consiguiente, se alistó un baño maría a 80°C con el fin de fomentar un calentado uniforme al vaso de precipitados en donde se preparará el gel.
4. En el vaso de precipitados se mezcló la gelatina porcina (80 g) en agua destilada (688 ml) al momento en el que el agua llegó a los 70°C .



Figura 15. Preparación de gel porcina con agua destilada a 70°C

5. Se mantuvo una temperatura de entre 65°C a 70°C con agitación constante por hora y media.



Figura 16. Agitación constante del gel porcino mediante una parrilla con temperatura de 65°C - 70°C

6. Tras pasar este tiempo se agrega una solución de intralípido a 1% y se mezcla en agitación constante.



Figura 17. Incorporación del intralípido al 1% mediante una parrilla con temperatura entre 65°C y 70°C , y en agitación constante.

7. Una vez que la solución agua-gelatina-intralípido presente una apariencia homogénea, se enfría hasta alcanzar una temperatura cercana a 40°C para poder agregar el glutaraldehído y se mezcla a una agitación a mayor velocidad y de forma constante.



Figura 18. Incorporación del glutaraldehído al 1% mediante una parrilla con temperatura de 40°C, y en agitación vigorosa.

8. Se vierte el gel en el recipiente y se dejan gelatinizar por 12 h a temperatura ambiente.

3.2 Incorporación del agente fotosensibilizador PpIX al gel porcino

Para el caso de la preparación del ZnPpIX, se preparó una solución *stock* con 25 mg del agente fotosensibilizante y se añadieron 2.5 ml de etanol 96% para posteriormente ser agitado con un Vortex. Posteriormente, de esta solución se extrajeron 0.5 ml en los cuales se aforaron con 8 ml para alcanzar una concentración de 1 mM, para volver a ser mezclada dentro del Vortex.



Figura 19. Preparación de la solución de PpIX.

La incorporación de esta solución fue con una proporción de mezcla entre la solución y el gel obtenido tras la inclusión del GTA. La proporción se basó en una relación 2/3 de gel y 1/3 de la solución de PpIX con fines de que existiera una mayor proporción de PpIX con respecto al intralípido que se encuentra dentro del gel. Para las muestras que consideramos, era necesario un volumen total de gel dopado de 49 ml, después de obtener este volumen se fue vertiendo en celdillas para su posterior irradiación.

3.3 Calibración del láser de 635 nm

Para la calibración del láser se utilizó una calculadora de irradiancia para poder determinar la cantidad de energía suministrada por cada cm^2 cubierto por el láser.

La calculadora fue proporcionada por el sitio web de www.laserpointersafety.com, en ella se consideró una distancia de 1cm con respecto al origen del láser al punto de irradiación (Ver Figura 20). La irradiación obtenida fue de 334.5039 mW/cm^2 , con ello se pudo determinar una tasa de dosis a partir de la siguiente formula:

$$t = \frac{\text{Dosis } \left[\frac{J}{\text{cm}^2}\right]}{\text{Irrandiancia } \left[\frac{W}{\text{cm}^2}\right]} \quad (\text{Ec. 1})$$

Los tiempos de radiación obtenidos son los mostrados por la Tabla 2:

Dosis (J/cm^2)	Tiempo de irradiación (s)
0	0
15	44.84
30	89.68
45	134.52

Tabla 2. Dosis y tiempo de irradiación



Figura 20. Arreglo experimental para la calibración del láser de 635 nm.

3.4 Fantoma dosimétrico: Gel porcino, caja petric y celdillas de poliestireno

Una caja Peltric de Pyrex fue usada como fantoma para colocar el gel porcino, e igualmente se distribuyeron cubetas (celdillas) alrededor del Pyrex para impartir las dosis de irradiación (J/cm^2) una vez vertido el gel porcino. El modelo propuesto para la irradiación de las muestras de calibración es el mostrado en la siguiente figura.

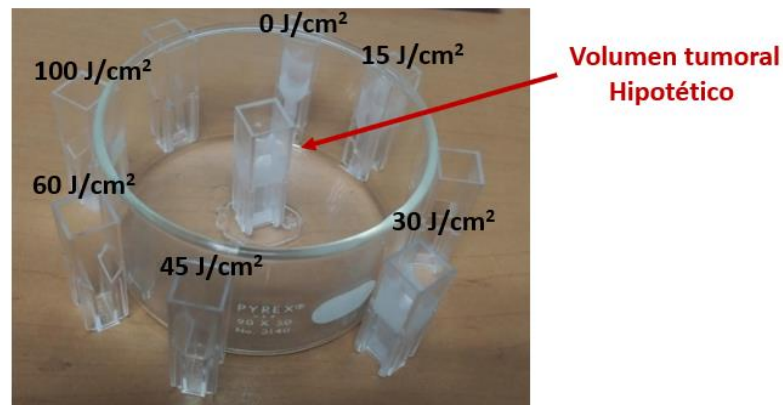


Figura 21. Modelo del fantoma propuesto previo a la incorporación del gel porcino.

El depósito del gel fue hecho a modo de que el centro del fantoma simulara la presencia de un volumen tumoral hipotético que sería rodeado por tejido equivalente a los alrededores. Las cubetas que se encuentran en la periferia del fantoma corresponderán a las muestras de calibración del gel porcino que serán irradiadas a diferentes dosis.

3.5 Calibración e irradiación del gel dosimétrico porcino

Una vez calibrado el láser monocromático de 635 nm, se procedió a irradiar el fantoma Pyrex con las celdillas de poliestireno en donde se encontraba el respectivo gel dosimétrico previamente endurecido. El proceso de irradiación del fantoma dosimétrico se observa en la Figura 21 que consistió en colocar el láser a una distancia de 1 cm de manera perpendicular a las cubetas de interés (central embebida en el Pyrex y aquellas colocadas en la periferia del mismo). Ver Figura 22.

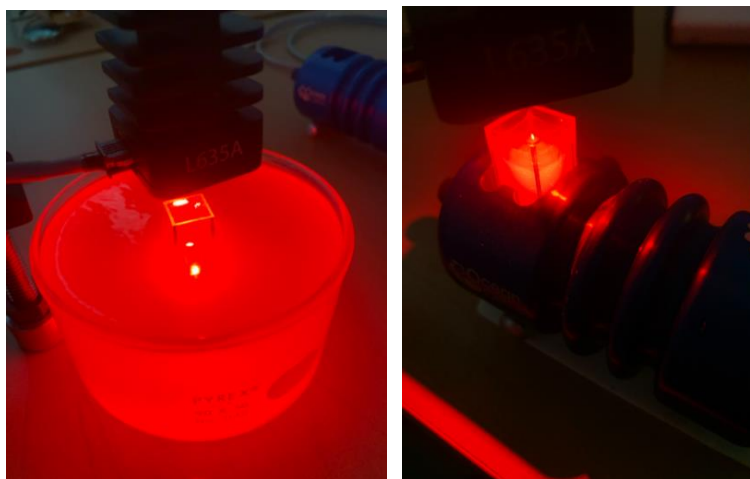


Figura 22. Modelo de irradiación del fantoma dosimétrico. Irradiación del volumen hipotético (Izquierda), irradiación individualizada de las muestras de calibración (circundantes al Pyrex).

Las muestras de calibración de gel porcino fueron irradiadas para obtener una dosis de exposición superficial de; 0 J/cm^2 , 15 J/cm^2 , 30 J/cm^2 y 45 J/cm^2 . De igual manera, para las cuatro muestras de calibración de gel porcino con el agente fotosensibilizador PpIX.

Notar que estas muestras de calibración son de gran importancia para poder relacionar la lectura del gel dosimétrico por imagen de Termografía Infrarroja (TIR) y la dosis de exposición por el fantoma dosimétrico (gel porcino contenido en paredes de vidrio Pyrex y celdillas de poliestireno).

3.6 Lectura del gel dosimétrico por imagen de termografía infrarrojo

La Termografía se puede utilizar para seguir los cambios de temperatura durante procedimientos PDT, porque indica qué tan bien el agente fotosensibilizante está distribuido dentro del área de tratamiento. También puede ayudar a identificar áreas que pueden tener concentración insuficiente del fármaco o flujo sanguíneo insuficiente, lo que potencialmente permitiría ajustes para mejorar los resultados del tratamiento (Ring & Ammer, 2012).

Para el registro de dosis se utilizó una cámara termográfica FLIR E8-XT. La resolución de la cámara es de 320 x 240 píxeles y una sensibilidad térmica de 0.05 °C. Posteriormente, para el análisis de las imágenes se utilizó el Software FLIR Thermal Studio Versión 1.8.2. Tal como se observa en la Figura 23.

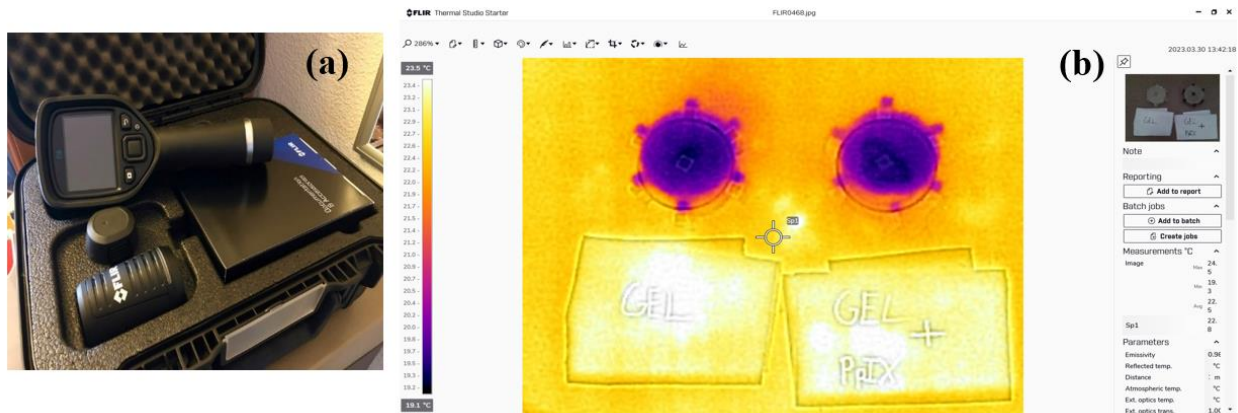


Figura 23. (a) Cámara termográfica FLIR E8-XT. (b) Software FLIR Thermal Studio para el análisis de gradientes de temperatura en las muestras dosimétricas de interés.

Cabe mencionar que, se realizaron dos experimentos (n=2), es decir, dos gels dosimétricos. Donde cada gel dosimétrico corresponde a dos Pyrex de vidrio con sus

respectivas celdillas los cuales contienen gel porcino y otro gel porcino con PpIX. (Ver Figura 24).

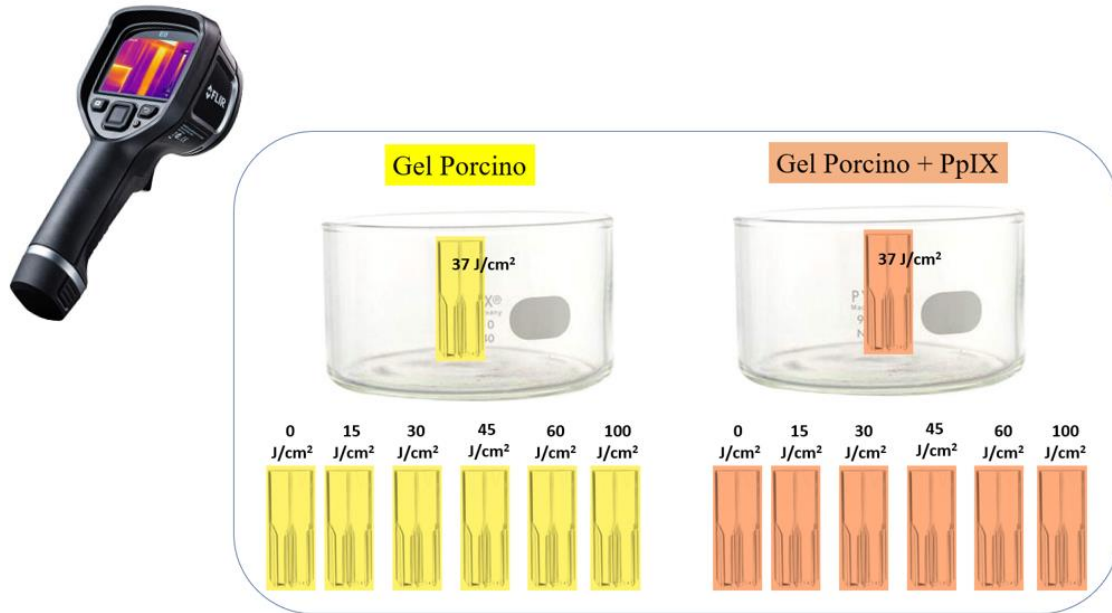


Figura 24. Arreglo demostrativo para un experimento (n=1)

Para los dos experimentos realizados (n=2), los gradientes de temperatura fueron monitoreados en 0, 1, 2, 3, 4, 5 y hasta 6 horas después de su irradiación con la fuente láser. En donde se observó que, en cuatro horas después de su irradiación, la respuesta del gel dosimétrico era estable para ambos experimentos. Por lo que se fijó la lectura de imagen térmica en cuatro horas después de la irradiación la toma de imágenes por Termografía Infrarroja (lectura), sería llevada a cabo.

Finalmente, curva de calibración de dosis-respuesta del gel dosimétrico fueron asociadas a los gradientes de temperaturas y la dosis de radiación a la que fueron sometidas las celdillas (cubetas) con el gel dosimétrico, tanto *con* como *sin* PpIX. Para ello, se utilizó el software Origin 2019 (64 bits) con la versión 9.6.0.172 para obtener las Figuras 27, 28, 29 y 30. El software Origin es propiedad de la Fundación Universidad de Las Américas Puebla y se obtuvo en www.originlab.com.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Síntesis del gel dosimétrico con/sin el agente fotosensibilizador PpIX

Para la síntesis del gel, se siguió el protocolo mencionado anteriormente, las porciones consideradas son las siguientes:

Reactivo	Masa/Volumen
Agua destilada	688 ml
Intralípido al 1%	8 ml
Glutaraldehído al 1%	8 ml
Gelatina porcina	80 g

Tabla 3. Cantidades de reactivos para un experimento de geles dosimétricos (con y sin PpIX).

Estas cantidades consideran el uso de 2 cajas Peltric Pyrex de 60 mm x 90 mm, las cuales contaban con un volumen de 270 ml cada una, además de que también se consideró el volumen de las 14 cubetas que iban a proporcionar el espacio para las muestras a irradiar, cada una de la cubetas contaban con un volumen cercano a 3.5 ml.

El resultado de ambos fantomas se puede apreciar mejor en la siguiente imagen:

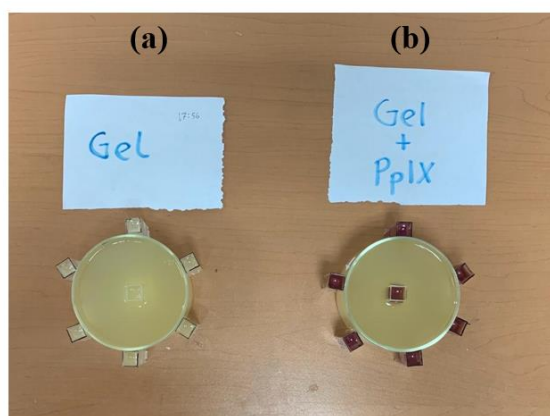


Figura 25. Fantoma a base de solo gel (a) y fantoma a base de gel con PpIX (b).

Como se puede apreciar, se colocaron las cubetas por la periferia del fantoma principal con fines de tener contrastes dentro de los registros de termografía, además de que las entradas de las cubetas fueron marcadas con fines de distinguirlas de mejor manera dentro de la cámara termográfica. Las dosis se fueron repartiendo desde la cubeta superior, iniciando con 0 J/cm^2 hasta los 100 J/cm^2 en donde se considera un posicionamiento en sentido de las manecillas del reloj.

4.2 Calibración del dosímetro de gel porcino como función de la dosis de radiación mediante Termografía Infrarroja

Cuatro muestras de calibración de gel porcino fueron irradiadas para obtener una dosis de exposición superficial de: 0 J/cm^2 , 15 J/cm^2 , 30 J/cm^2 y 45 J/cm^2 . De igual manera, para las cuatro muestras de calibración de gel porcino con el agente fotosensibilizador. Notar que estas muestras de calibración son de gran importancia para poder relacionar la lectura con la termografía infrarroja (TIR) y la dosis de exposición por el fantoma dosimétrico (gel porcino contenido en paredes de vidrio Pyrex y celdillas de poliestireno).

La TIR fue llevada a cabo mediante la toma de imágenes infrarrojas del fantoma dosimétrico de piel porcina. La Figura 26 muestra una imagen TIR del fantoma con el gel dosimétrico que se asocia con las dosis de irradiación.

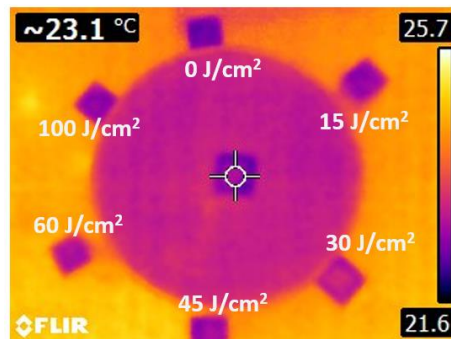


Figura 26. Imagen de la TIR de las muestras de gel porcino del fantoma compuesto por el Pyrex de vidrio y las celdillas de poliestireno.

La correlación de temperaturas registradas en cada celdilla de gel porcino como función de la dosis de exposición de 0 J/cm², 15 J/cm², 30 J/cm² y 45 J/cm², se pueden apreciar en la Figura 27.

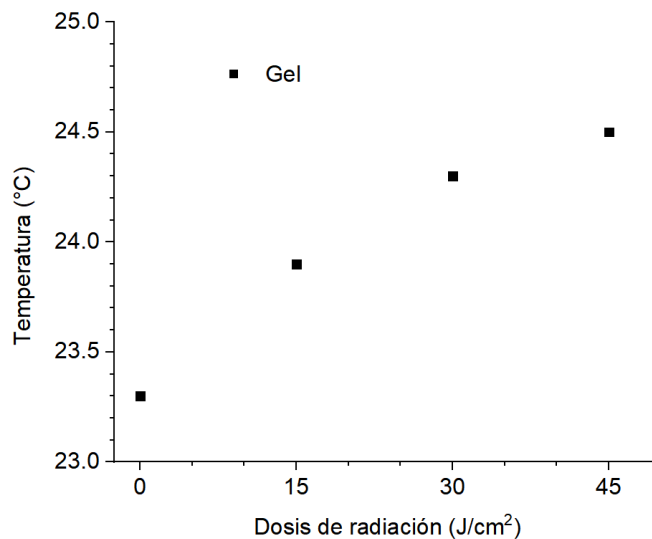


Figura 27. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico (sin PpIX)

Adicionalmente, la Tabla 4 muestra el gradiente en las unidades de temperatura (ΔT) como función de la dosis de radiación. El siguiente proceso fue realizado para obtener los gradientes de temperatura: los valores promedio obtenidos por el medidor de puntos (*spotmeter*) para las muestras irradiadas a 15 J/cm², 30 J/cm² y 45 J/cm², fueron restados respectivamente por el valor promedio de la temperatura registrada por el *spotmeter* de la muestra no irradiada (0 J/cm²).

Dosis de radiación (J/cm ²)	$\Delta T_{sin PpIX}$ (°C)
0	0
15	0.6
30	1.0
45	1.2

Tabla 4. Incremento en el gradiente de temperatura ΔT como función de la dosis absorbida para el gel dosimétrico sin PpIX

De manera similar, se muestra en la Figura 28 y Tabla 5 la correspondencia de temperaturas registradas en cada celdilla de poliestireno que contiene gel porcino con una concentración de 1 mM de PpIX.

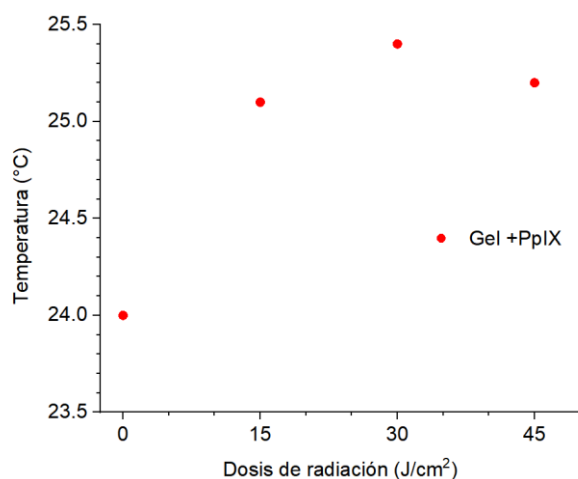


Figura 28. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico con PpIX a una concentración de 1mM

Dosis de radiación (J/cm²)	$\Delta T_{con PpIX}$ (°C)
0	0
15	1.1
30	1.4
45	1.2

Tabla 5. Incremento en el gradiente de temperatura (ΔT) como función de la dosis absorbida para el gel dosimétrico con PpIX.

Con la finalidad de distinguir la respuesta dosimétrica de ambos geles porcinos (con y sin PpIX), se muestra la Figura 29, en donde se puede apreciar que en general, a medida que aumenta la dosis de exposición superficial de las muestras dosimétricas, se percibe un aumento en el valor de temperatura superficial en ellas (gel con y sin PpIX).

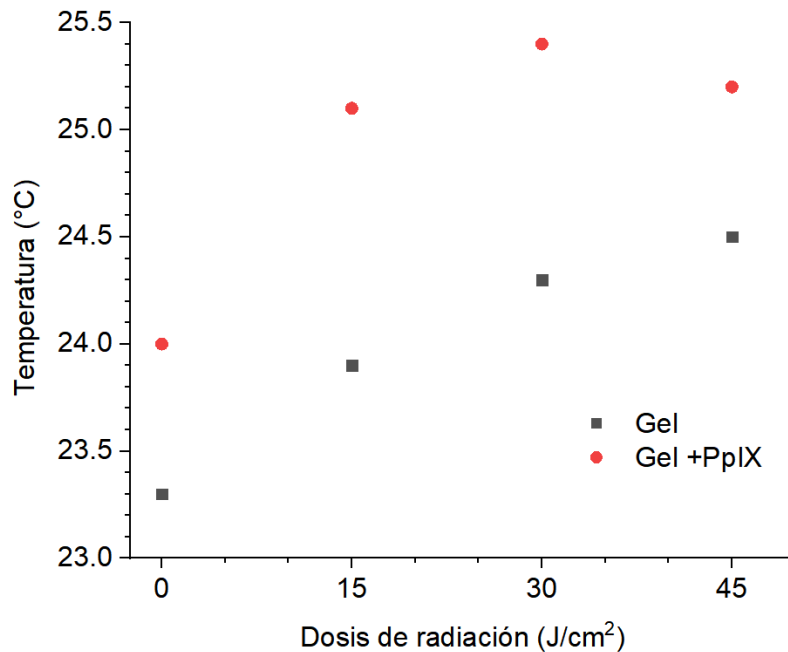


Figura 29. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico con y sin el agente PpIX

Cabe mencionar que ambas curvas de respuesta del gel dosimétrico porcino se encuentran dentro del rango de dosis estándar (37 J/cm^2) reportada para tratamientos clínicos y experimentales de la Terapia Fotodinámica como lo es en tratamientos combinados (Lucena y col., 2015) y en el tratamiento para cáncer de piel que no es tipo melanoma (Cohen & Lee, 2016).

4.3 Estimación experimental del factor de incremento de dosis en función de gradientes de temperatura.

Como se mencionó anteriormente, el factor de incremento de dosis k , se tomó en el presente trabajo como la relación de gradientes de temperaturas del gel porcino + PpIX ($\Delta T_{con PpIX}$) normalizado con respecto al gradiente de temperaturas registradas por el gel porcino ($\Delta T_{sin PpIX}$). Dichos factores de dosis pueden observarse en la Tabla 6, la cual muestra los

tres factores de incremento de dosis correspondientes a la dosis de radiación de 15, 30 y 45 J/cm², que pueden ser fácilmente obtenidos al dividir los valores de ΔT de la Tabla 5 con respecto los valores de la Tabla 4.

Dosis de radiación (J/cm ²)	$k = \frac{\Delta T_{con PpIX}}{\Delta T_{sin PpIX}}$
0	-
15	1.83
30	1.40
45	1.00

Tabla 6. Factores de incremento de dosis (k) estimados mediante el gradiente de temperatura (ΔT) del gel dosimétrico con PpIX respecto sin PpIX.

La Tabla 6 muestra valores de incrementos de dosis favorables y comparables a los reportados en la literatura por otras técnicas de radiación (radioterapia), tal como Rahman *et al.* en donde se reporta un factor de incremento de dosis de 1.76 y 1.14 para dosímetros a base gel de poliacrilamida dopados con nanopartículas de oro, cuando estos son irradiados con una fuente de 80 keV y 6 MeV, respectivamente (Rahman, Wong, Ackerly, Yagi, & Geso, 2012). Por otra parte, Farahani *et al.*, reportan factores de incremento de dosis de 5.32 cuando polímeros en gel a base de ácido metacrílico (MAGAT) son irradiados con una fuente de cobalto 60 de 1.25 MeV (Farahani y col., 2019).

Finalmente, es importante mencionar que se realizaron mediciones de gradientes de temperatura a las dosis de radiación de 60 y 100 J/cm² a las muestras de gel dosimétrico. Las cuales mostraron un factor de incremento de dosis de 1.13 y 1.4, respectivamente. Sin embargo, no se muestran como parte de resultados debido que se observa una discontinuidad en la linealidad de la curva dosis-respuesta del gel dosimétrico (Ver Figura 30 y Tabla 7 en ANEXO). A pesar de ello, es importante observar que hay un incremento de dosis superior a la unidad, lo cual indica que después de las dosis de 45 J/cm² existe un efecto positivo en las dosis de 60 y 100 J/cm².

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- En este trabajo de tesis se propuso un protocolo que puede ser reproducible para la síntesis de geles dosimétricos basado en piel porcina aplicables a la Terapia Fotodinámica.
- Adicionalmente, en el presente trabajo se plantea el uso de la modalidad de imagen de Termografía Infrarroja como un método alternativo para evaluar la dosis-respuesta de los geles dosimétricos ante tratamientos de la Terapia Fotodinámica, esto debido a la relación que presenta la temperatura con la dosis de exposición del gel.
- Finalmente, se propone una manera de estimar el factor de incremento de dosis k , a través de la relación de gradientes de temperatura (ΔT) cuando un agente fotosensibilizador como la PpIX es incrustado en el gel dosimétrico.

5.2 Recomendaciones

- Uno de los inconvenientes principales de los registros térmicos es que existe un sesgo debido a los cambios de temperatura ambiental, el contacto con la temperatura corporal al manipular las muestras y la disipación de calor por cuerpos que rodean a las muestras. El uso de un equipo enfocado a la temperatura es favorecedor ya que no es tan costoso como otros equipos de imagen médica y es fácil de manipular, sin embargo, es fácil cometer errores al momento de tomar las mediciones por lo que se

recomendaría el uso de otros métodos de imagen como apoyo a las mediciones o como sustituto, aunque hay que sopesar las ventajas y desventajas de estos cambios.

- Hay que ir a mayor profundidad con las propiedades del gel dosimétrico, tiene la capacidad de dar resultados esperados para una dosimetría, sin embargo, es necesario el caracterizar aún más el gel y sus aditivos para tener un mayor control dentro de la dosimetría.
- Hay que explorar la respuesta de las variaciones del PpIX, a pesar de que su componente principal sea la protoporfirina, pero los derivados de ésta misma podrían cambiar ligeramente su respuesta, por lo que sería recomendable el revisar sus respuestas con el mismo gel dosimétrico.
- Explorar el uso de un posible fotoiniciador que sea capaz de entrecruzar el gel porcino al interactuar con la longitud de onda de 635 nm. (Sun y col., 2021).

REFERENCIAS

- Alsaab, H. O., Alghamdi, M. S., Alotaibi, A. S., Alzhrani, R., Alwuthaynani, F., Althobaiti, Y. S., . . . Iyer, A. K. (2020). Progress in Clinical Trials of Photodynamic Therapy for Solid Tumors and the Role of Nanomedicine. *Cancers*, 1-4.
- Barreto Requena, M., Vollet Filho, J. D., Barboza de Nardi, A., Escobar, A., Rocha Adams, R., Salvador Bagnato, V., & Campos de Menezes, P. F. (2019). Topical and intradermal delivery of PpIX precursors for photodynamic therapy with intense pulsed light on porcine skin model. *Lasers in Medical Science*, 1-7.
- Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Rubini, K., & Roveri, N. (2001). Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. *Biomaterials*, 763-767.
- Buzalewicz, I., Hołowacz, I., Ulatowska-Jarża, A., & Podbielska, H. (2017). Towards dosimetry for photodynamic diagnosis with the low-level dose of photosensitizer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 173, 333-343.
- Chun-Hsu, Y., Bai-Shuan, L., Chen-Jung, C., Shan-Hui, H., & Yueh-Sheng, C. (2004). Preparation of networks of gelatin and genipin as degradable biomaterials. *Materials Chemistry and Physics*, 204-208.
- Cohen, D. K., & Lee, P. K. (2016). Photodynamic Therapy for Non-Melanoma Skin Cancers. *Cancers*, 1-9.
- Correa, C. (5 de Noviembre de 2014). *Física: materiales para el curso de física de primero de bachillerato*. Obtenido de <https://2013fisica.wordpress.com/2014/11/05/unidad-3-ondas-electromagneticas-y-fotones/>
- Dimofte, A., Finlay, J., Ong, Y. H., & Zhu, T. C. (2018). A quality assurance program for clinical PDT. *Proceedings of SPIE--the International Society for Optical Engineering*, 10476, 104760L. <https://doi.org/10.1117/12.2288561>

- Farahani, S., Alam, N. R., Haghgoo, S., Khoobi, M., Geraily, G., & Gorji, E. (2019). Dosimetry and Radioenhancement Comparison of Gold Nanoparticles in Kilovoltage and Megavoltage Radiotherapy using MAGAT Polymer Gel Dosimeter. *Journal of biomedical physics & Engineering*, 199.
- Gallegos , E. R. (2019).. Portal del Instituto Politecnico Nacional. *Instituto Politecnico Nacional*
- Greene, Y. D. (2004). Fundamentals of MRI measurements for gel dosimetry. *Journal of Physics*, 2-7.
- Hasan T, Ortel B, Moor ACE, et al. Photodynamic Therapy Dosimetry. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors. *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker; 2003. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13824/>
- Hildebrandt, C., Raschner, C., & Ammer, K. (2010). An overview of recent application of medical infrared thermography in sports medicine in Austria. *Sensors*, 10(5), 4700-4715.
- Hyun Yun, S., & J. J. Kwok, S. (2017). Light in diagnosis, therapy and surgery. *Nature biomedical engineering*, 4-8.
- Imani, R., Rafienia, M., & Hojjati Emami, S. (2013). Synthesis and characterization of glutaraldehyde-based crosslinked gelatin as a local hemostat sponge in surgery: an in vitro study. *Bio-medical materials and engineering*, 23(3), 211-224.
- Imran, M., Ramzan, M., Qureshi, A. K., Khan, M. A., & Tariq, M. (2018). Emerging Applications of Porphyrins and Metalloporphyrins in Biomedicine and Diagnostic Magnetic Resonance Imaging. *Biosensors*, 3-11.
- J. Dougherty, T., J. Gomer, C., W. Henderson, B., Jori, G., Kessel, D., Moan, J., & Peng, Q. (1998). Photodynamic Therapy. *Journal of National Cancer Institute*, 1-7.
- Jiang, K., Homayoni, H., Zou, X., Hossu, M., Rashidi, L. H., & Chen, W. (2015). Enhancement of Protoporphyrin IX Performance in Aqueous Solutions for Photodynamic Therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 258-266.

- Kawczyk-Krupka, A., Bugaj, A. M., Latos, W., Zaremba, K., Wawrzyniec, K., & Sieron, A. (2015). Photodynamic therapy in colorectal cancer treatment: The state of the art in clinical trials. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 3-7.
- Kim, M. M., & Darafsheh, A. (2020). Light sources and dosimetry techniques for photodynamic therapy. *Photochemistry and photobiology*, 96(2), 280-294.
- Law, J., Morris, D.E., Budge, H., Symonds, M.E. (2018). Infrared Thermography. In: Pfeifer, A., Klingenspor, M., Herzig, S. (eds) *Brown Adipose Tissue. Handbook of Experimental Pharmacology*, vol 251. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/164_2018_137
- Lindsey, J. S. T. M. D. H. (1998-2023). *PhotochemCAD. Protoporphyrin IX dimethyl ester*. <https://www.photochemcad.com/databases/common-compounds/porphyrins/protoporphyrin-ix-dimethyl-ester>
- Lucena, S. R., Salazar, N., Gracia-Cazaña, T., Zamarrón, A., González, S., Juarranz, Á., & Gilaberte, Y. (2015). Combined Treatments with Photodynamic Therapy for Non-Melanoma Skin Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 25912-25933.
- McGarry, C. K., Grattan, L. J., Ivory, A. M., Leek, F., Liney, G. P., Liu, Y., ... & Clark, C. H. (2020). Tissue mimicking materials for imaging and therapy phantoms: a review. *Physics in Medicine & Biology*, 65(23), 23TR01.
- Morton, C. A., Szeimies, R. M., Sidoroff, A., & Braathen, L. R. (2013). European guidelines for topical photodynamic therapy part 1: treatment delivery and current indications—actinic keratoses, Bowen’s disease, basal cell carcinoma. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 27(5), 536-544.
- Nowis, D., Bugajski, M., Winiarski, M., Bil, J., Szolkalski, A., Salwa, P., . . . Golab, J. (2008). Zinc protoporphyrin IX, a heme oxygenase-1 inhibitor, demonstrates potent antitumor effects but is unable to potentiate antitumor effects of chemotherapeutics in mice. *Biomed Central*, 2-10.
- Pogue, B. W., & Patterson, M. S. (2006). Review of tissue-simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging, and dosimetry. *Journal of Biomedical Optics*, 1-11.
- Rahman, W. N., Wong, C. J., Ackerly, T., Yagi, N., & Geso, M. (2012). Polymer gels impregnated with gold nanoparticles implemented for measurements of radiation

- dose enhancement in synchrotron and conventional radiotherapy-type beams. *Australasian Physical & engineering sciences in Medicine*, 301-309.
- Ramón-Gallegos, E., Reyes-Arellano, A. R., Olvera-Ramírez, R., & Cruz-Orea, A. (1999). *EFFECTIVIDAD DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA UTILIZANDO NUEVOS FOTOSENSIBILIZADORES SINTETIZADOS Y AISLADOS EN MÉXICO*. Obtenido de www.cio.mx: https://congresos.cio.mx/3_enc_mujer/files/extensos/Sesion%202/S2-FMCT20.doc
- Resnick, R., Halliday, D., & S. Krane, K. (2009). *Física*. Ciudad de México: Grupo Editorial Patria.
- Ring, E., & Ammer, K. (2012). Infrared thermal imaging in medicine. *Physiological Measurement*, 1-11.
- Rohrbach, D. J., Muffoletto, D., Huihui, J., Saager, R., Keymel, K., Paquette, A., . . . Sunar, U. (2014). Preoperative Mapping of Nonmelanoma Skin Cancer Using Spatial Frequency Domain and Ultrasound Imaging. *Academic Radiology*, 263-270.
- Saiko, G., & Douplik, A. (2020). Water-sensitive Gelatin Phantoms for Skin Water Content Imaging. *BIOIMAGING*, 130-134.
- Santos, S. O., & Souza, V. L. (2019). Fricke Dosimetry as a Tool to Quality Control of Photodynamic Therapy. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, 1-9.
- Schary, N., Novak, B., Kämper, L., Yousf, A., & Lübbert, H. (2022). Identification and pharmacological modification of resistance mechanisms to protoporphyrin-mediated photodynamic therapy in human cutaneous squamous cell carcinoma cell lines. *Photodiagnosis and therapy*, 1-13.
- Shi, X., Yang Zhang, C., Gao, J., & Wang, Z. (2019). Recent advances in photodynamic therapy for cancer and infectious diseases. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 1-9.
- Stuker, F., Ripoll, J., & Rudin, M. (2011). Fluorescence Molecular Tomography: Principles and Potential for Pharmaceutical Research. *Pharmaceutics*, 2-12.
- Sun, A., He, X., Ji, X., Hu, D., Pan, M., Zhang, L., & Qian, Z. (2021). Current research progress of photopolymerized hydrogels in tissue engineering. *Chinese Chemical Letters*, 32(7), 2117-2126.

- Tan, Y. K., Hong, C., Li, H., Allen Jr, J. C., & Thumboo, J. (2020). Thermography in rheumatoid arthritis: a comparison with ultrasonography and clinical joint assessment. *Clinical Radiology*, 75(12), 963-e17.
- Taylor, E. L., & Brown, S. B. (2002). The advantages of aminolevulinic acid photodynamic therapy in dermatology. *Journal of dermatological treatment*, 13(sup1), s3-s11.
- Tippens, P. E. (2011). *Física: conceptos y aplicaciones*. Ciudad de México: McGraw-Hill.
- Tyrrell, J., Paterson, C., & Curnow, A. (2019). Regression Analysis of Protoporphyrin IX Measurements Obtained During Dermatological Photodynamic Therapy. *Cancers*, 11(1), 72. <https://doi.org/10.3390/cancers11010072>
- Wang, R. K., Kirkpatrick, S., & Hinds, M. (2007). Phase-sensitive optical coherence elastography for mapping tissue microstrains in real-time. *Applied Physics Letters*, 2-4.
- Zhang, Y., Zhang, X., & Zhou, B. (2023). Zinc Protoporphyrin-9 Potentiates the Anticancer Activity of Dihydroartemisinin. *Antioxidants*, 1-12. Obtenido de <https://www.scbt.com/p/zinc-protoporphyrin-9-15442-64-5>
- Zhu, T. C., & Finlay, J. C. (2008). The role of photodynamic therapy (PDT) physics. *Medical Physics*, 1-3.

ANEXO

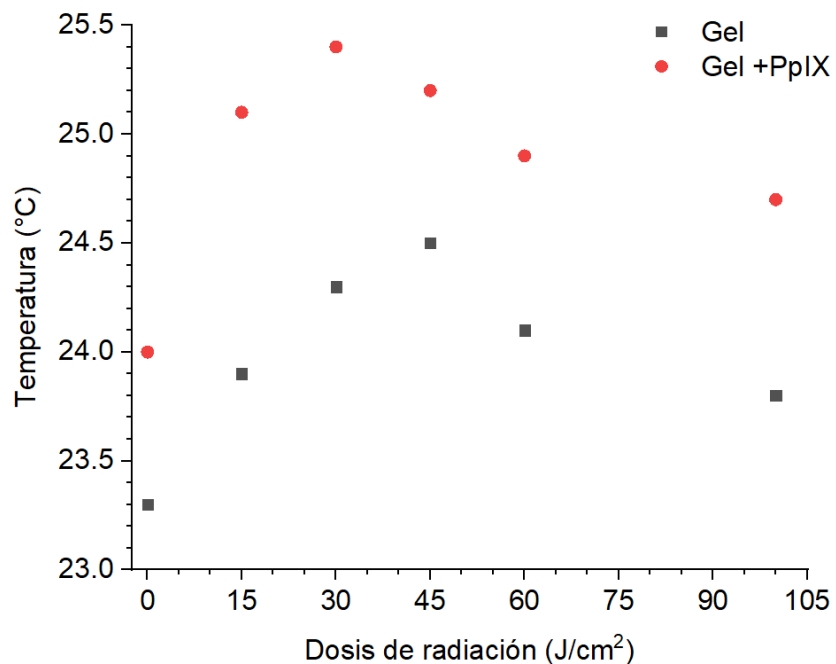


Figura 30. Curva de calibración para el gel porcino dosimétrico con y sin el agente PpIX, incluyendo las dosis de radiación de 60 y 100 J/cm².

Dosis de radiación (J/cm ²)	$k = \frac{\Delta T_{con PpIX}}{\Delta T_{sin PpIX}}$
0	-
15	1.83
30	1.40
45	1.00
60	1.13
100	1.40

Tabla 7. Factores de incremento de dosis (k), incluyendo las dosis de radiación de 60 y 100 J/cm²