

# PROPUESTA DE TESIS DE MAESTRÍA EN CIENCIAS FÍSICAS

## DATOS GENERALES DE LA PROPUESTA

Título de la propuesta: **Machine Learning aplicado a tratamiento de cancer con radiación en INTECNUS**

Apellido y Nombres del director: **Fabian Bonetto**

Teléfono: **154503094**

Dirección electrónica del director (ingresar una sola dirección): **fabian.bonetto@gmail.com**

Cargo IB: **Profesor Titular**

¿Propone codirector? : **SÍ**

Datos Co-director: **Bellotti, Mariela Inès**

Dirección electrónica del codirector (ingresar una sola dirección): **bellotti@gmail.com**

Título máximo alcanzado del codirector (Doctor, Magister, otros) : **Doctor**

Cargo docente del codirector en el IB (no excluyente): **No**

Justifique brevemente el rol del Codirector: : **La Co-Directora aporta mas de 20 años de experiencia en Bioquímica (Lic. en Bioquímica, Univ. Nac. de Córdoba) y Medicina (Dra.. en Medicina, UBA) a nuestro laboratorio.**

Lugar de realización: **Laboratorio de Cavitación y Biotecnología**

## DETALLE TÉCNICO DE LA PROPUESTA

Orientación:

**Física en Medicina y Biología**

Breve descripción: **Breve descripción: Objetivos:**

**El objetivo específico de este trabajo es desarrollar un ensayo combinado con técnicas de analíticas de procesamiento que avancen el conocimiento en la determinación de la radiosensibilidad (tratamiento) intrínseca de células tumorales y normales basado en la técnica de impedancia eléctrica espectral de células. El objetivo general es contribuir al desarrollo de tratamientos personalizados que involucren radiaciones ionizantes en radioterapia.**

**Antecedentes:**

**Radioterapia y radiobiología clínica. La radiación ha sido empleada para el tratamiento del cáncer por más de un siglo, lo cual ha dado lugar a un vasto cuerpo de experiencia clínica para un conjunto de prácticas con diferentes grados de aceptación. Actualmente, la radioterapia sola o combinada con otros tratamientos se emplea en más del 50% de las patologías del cáncer. Los protocolos actuales de tratamiento con radioterapia, para una amplia variedad de tipos de cáncer, se establecieron principalmente a través de experiencia clínica empírica.**

**Espectroscopia de impedancia eléctrica celular. La técnica conocida como Espectroscopia de Impedancia Eléctrica Celular (ECIS, Electric Cell-substrate Impedance Sensing se enfoca en el estudio del comportamiento celular invitro a partir del monitoreo no invasivo y en tiempo real de su impedancia eléctrica, una magnitud física que representa la oposición de un circuito al paso de corriente cuando se aplica sobre este una diferencia de potencial eléctrico. Debido a que la impedancia eléctrica es una magnitud compleja, está caracterizada por un módulo y una fase. Para medirla se utilizan arreglos de microelectrodos (MEAs, microelectrode arrays) sobre los cuales se cultivan las**

**células. Un MEA consiste típicamente en un sustrato biocompatible (es decir, que facilita la adhesión y proliferación de células en su superficie) sobre el cual se ubican uno o más recipientes de cultivo llamados wells. En el interior de cada well se encuentran uno o más microelectrodos activos y un contraelectrodo. Las células se cultivan en el interior del well, se aplica una diferencia de potencial alterna entre cada microelectrodo y el contraelectrodo a una frecuencia, se mide la corriente que circula y se calculan el módulo y la fase de la impedancia compleja. Repitiendo el procedimiento a diferentes frecuencias de excitación, se obtiene finalmente un espectro de impedancia eléctrica. Se ha demostrado que la presencia de células adheridas a un microelectrodo modifica sustancialmente tanto el módulo como la fase de su impedancia eléctrica, y que su efecto depende de la frecuencia de excitación. Existen modelos matemáticos que relacionan parámetros biológicos relevantes del cultivo celular, tales como la distancia célula-sustrato, la resistencia de las uniones intercelulares y la capacidad eléctrica de la membrana celular, con el módulo y el ángulo de fase de la impedancia eléctrica a diferentes frecuencias. Esto ha dado lugar a múltiples aplicaciones de esta técnica en el estudio del comportamiento de cultivos celulares in vitro. En particular, ha sido aplicada extensamente para el estudio de la propagación y adhesión celulares, diferenciación celular, citotoxicidad, ensayos de herida y cicatrización, estudio del comportamiento de células cancerosas, evaluación de patologías, etc. En este contexto, el grupo de trabajo propuesto ha realizado una serie de aportes relevantes entre los cuales se destacan el desarrollo de una técnica para el estudio de la dinámica de la muerte celular en tiempo real y el desarrollo de un sistema basado en ECIS para la discriminación entre células normales y cancerosas. Si bien la técnica ECIS es considerada hoy en día una herramienta fundamental en las investigaciones que involucran el estudio de cultivos celulares, aún no ha sido adecuadamente introducida en el campo de la radiobiología y, particularmente, de la radiobiología clínica. En este proyecto se propone desarrollar un ensayo basado en la técnica ECIS para la determinación de curvas de supervivencia de células irradiadas, el cual involucraría un correcto modelado físico de la respuesta eléctrica del cultivo celular y un análisis adecuado de los datos resultantes. Se prevee que este ensayo, una vez validado, servirá como una alternativa más rápida y con mayor resolución que el ensayo clonogénico tradicional, lo que permitirá su empleo en la determinación de parámetros radiobiológicos específicos de un paciente (medicina personalizada o medicina de precisión). Además, el ensayo propuesto es completamente compatible con el agregado de drogas u otros agentes modificadores de radiosensibilidad, por lo que se prevee que tendrá también aplicaciones en otros estudios de radiobiología clínica.**

#### **Actividades y metodología:**

**Para lograr el objetivo específico de esta propuesta de trabajo, se propone dividir las actividades en las siguientes etapas:**

- 1: Desarrollo y validación de una técnica de determinación de eficiencia de plaqueo basada en mediciones de bioimpedancia. En esta primera etapa, se emplearán arreglos de microelectrodos (MEAs) desarrollados en el lugar de trabajo para la determinación en tiempo real de espectros de bioimpedancia eléctrica de cultivos de líneas celulares normales (NMuMG, MDCK-II) y cancerosas (LM3). De esta manera, se determinará la eficiencia de plaqueo, con el objeto de utilizarla en la construcción de curvas de supervivencia celular y, consecuentemente, en la determinación de los parámetros de radiosensibilidad intrínseca.**
- 2. Se perfeccionarán técnicas estadísticas de Machine Learning para discriminar células cancerosas de normales tanto para mediciones que realizamos con anterioridad como para mediciones a realizar durante esta propuesta de trabajo.**
- 3: Determinación de curvas de supervivencia de líneas celulares y obtención de parámetros de radiosensibilidad intrínseca. En esta segunda etapa, se empleará la técnica de determinación de eficiencia de plaqueo desarrollada en la primera etapa para obtener curvas de supervivencia de líneas celulares expuestas a radiación. Las muestras se irradiarán en un acelerador lineal Elekta Synergy, es decir, con la misma fuente con que se realiza el tratamiento de radioterapia en pacientes, y se ensayarán diferentes dosis y esquemas de fraccionamiento.**

#### **Factibilidad:**

**Para la realización de los experimentos, se cuenta con el aval del Ing. Luis Rovere, gerente general de la Fundación Instituto de Tecnologías Nucleares para la Salud (INTECNUS). Dicha institución cuenta con equipamiento de punta en medicina nuclear y, particularmente relacionado con este trabajo**

cuenta con dos aceleradores lineales (Elekta Synergy y Elekta Synergy Platform) para tratamientos de radioterapia externa. INTECNUS proveerá al grupo de trabajo acceso a los aceleradores lineales para llevar a cabo los experimentos, así como asesoramiento por parte de sus profesionales especializados en radioterapia.

#### Referencias Bibliográficas

- W. Roa, X. Yang, L. Guo, B. Huang, S. Khatibisepehr, S. Gabos, J. Chen, and J. Xing, Real-time cell impedance sensing assay as an alternative to clonogenic assay in evaluating cancer radiotherapy, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 400, no. 7, pp. 2003-2011, 2011.
- I. Giaever and C. Keese, Monitoring fibroblast behavior in tissue culture with an applied electric field, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 81, pp. 3761-3764, 1984.
- C. Keese, J. Wegener, S. Walker, and G. I., Electrical wound-healing assay for cells in vitro, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 101, pp. 1554-1559, 2004.
- E. Urdapilleta, M. Bellotti, and F. Bonetto, Impedance analysis of cultured cells: A mean-field electrical response model for electric cell-substrate impedance sensing technique, *Physical Review E*, vol. 74, p. 041908, 2004.
- M. Bellotti, Evaluación biológica y fisicoquímica de dispositivos ECIS postulados para el diagnóstico de patologías oculares, Tesis de Doctorado en Medicina. Universidad Nacional de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 2008.
- M. Bellotti, W. Bast, A. Berra, and F. Bonetto, A new experimental device to evaluate eye ulcers using a multispectral electrical impedance technique, *Review of Scientific Instruments*, vol. 82, p. 074303, 2011.
- F. Giana, F. Bonetto, and M. Bellotti, Assay based on electrical impedance spectroscopy to discriminate between normal and cancerous mammalian cells, *Physical Review E*, vol. 97, p. 032410, 2018.
- F. Giana, Desarrollo de una técnica basada en mediciones de impedancia eléctrica para la discriminación in vitro entre células cancerosas y no cancerosas, Tesis de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería. Instituto Balseiro - Universidad Nacional de Cuyo/Comisión Nacional de Energía Atómica. San Carlos de Bariloche, Argentina. 2018.
- F. Giana, F. Bonetto, and M. Bellotti, Design and testing of a microelectrode array with spatial resolution for detection of cancerous cells in mixed cultures, *Measurement Science and Technology*, vol. 31, p. 025702, 2020.

Metodología principal: **Computacional**

Metodología secundaria: **Experimental**

Información adicional:

¿Propone que el tema sea considerado para suplemento de beca por tema prioritario? **NO**

Justifique porqué su propuesta debe ser considerada como tema prioritario:

Indique Gerente o Jefe de Departamento que avala su petición: