



# **Estudio de la respuesta celular inducida por BNCT en una línea de carcinoma tiroideo**

**Carla Rodriguez**  
**[carodrig@cnea.gov.ar](mailto:carodrig@cnea.gov.ar)**

**División Bioquímica Nuclear, Dpto. Radiobiología. CNEA**

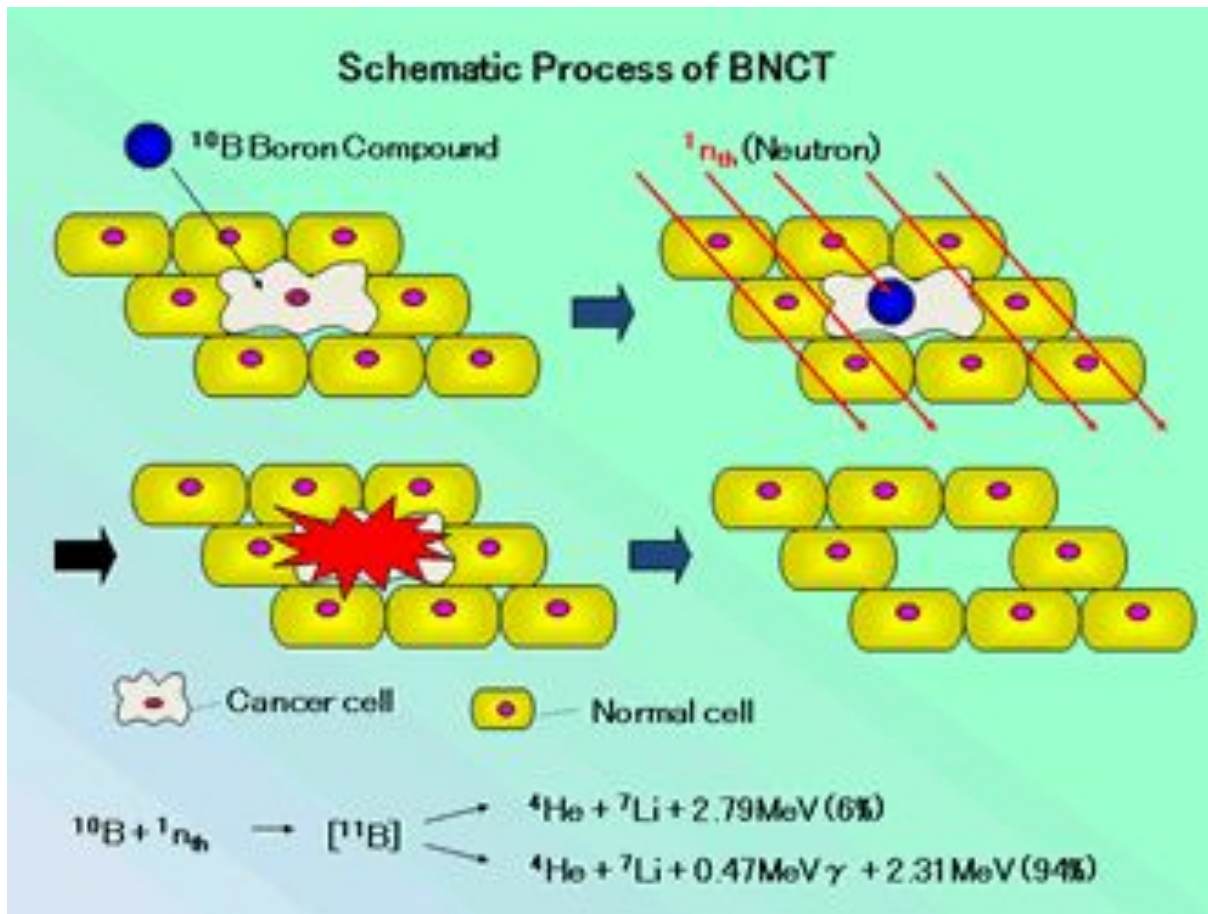
# Introducción

- El cáncer de tiroides es una de las formas más comunes de tumores endocrinos, representando alrededor del 0,5 al 1,5% de todos los tumores.
- En la mayoría de los casos estos tumores responden exitosamente al tratamiento con yodo radiactivo y en otros eventualmente se recurre a la cirugía con ablación de la glándula.
- Sin embargo los **cánceres indiferenciados o pobremente diferenciados de tiroides** no suelen responder a la terapia ya que a medida que disminuye su grado de diferenciación dejan de captar yodo radiactivo ( $^{131}\text{I}$ ).
- Además existe una minoría de pacientes con recurrencia del tumor luego del tratamiento que no responden a ninguna de las terapias convencionales.

# Introducción

En base a estos hechos se propuso a BNCT como un posible tratamiento para este tipo de tumores ya que la superficialidad de la glándula permitiría ser alcanzada fácilmente por un haz de neutrones.

# BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY (BNCT)



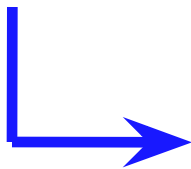
**BPA:** borofenilalanina

# ADN

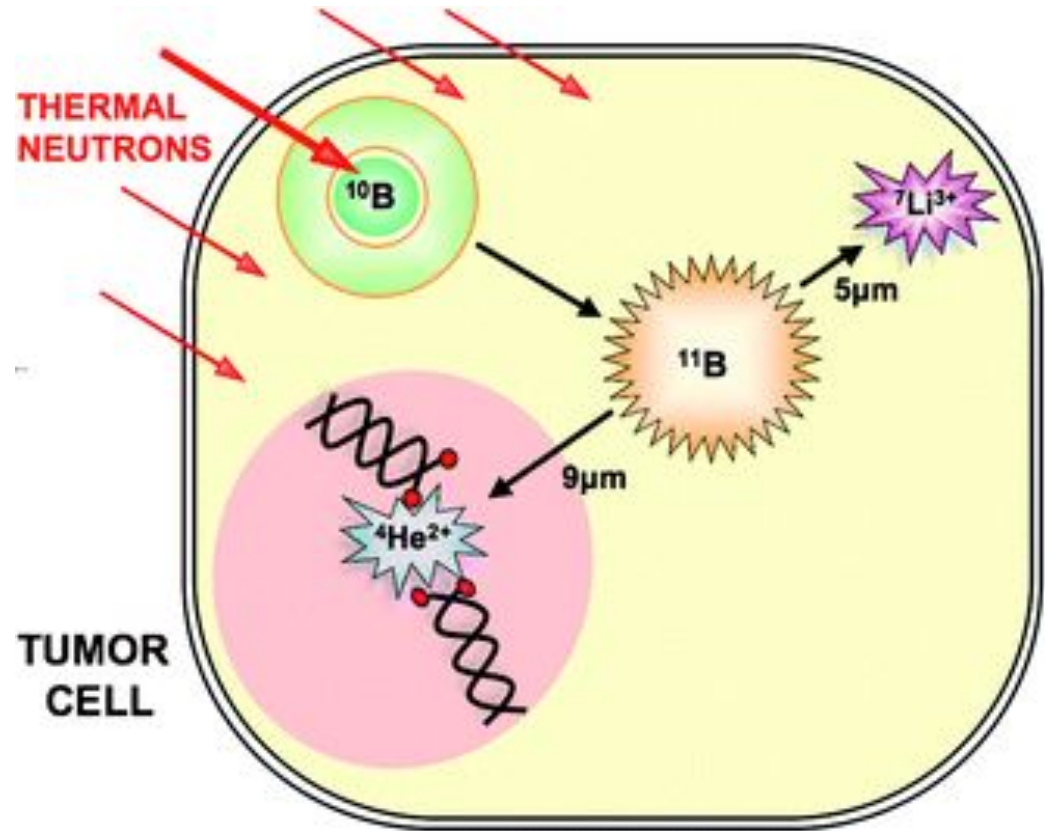
Double strand breaks



Activación de los  
mecanismos de  
reparación



Recuperación y sobrevida celular

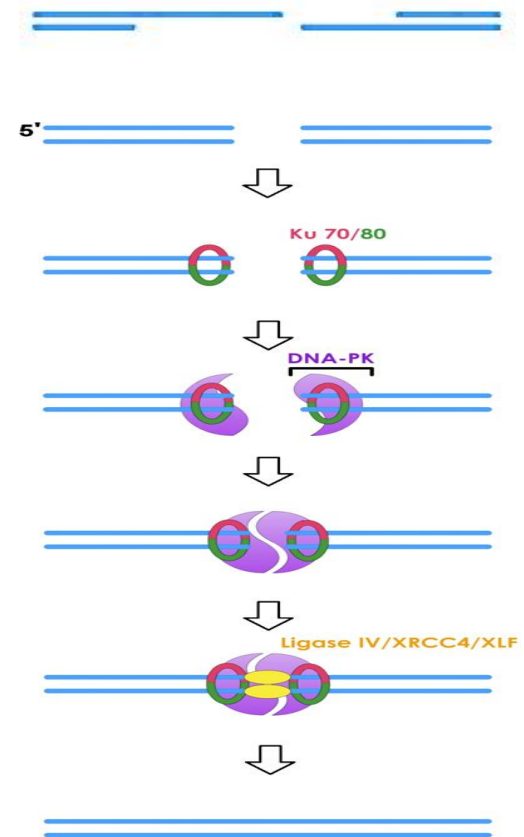
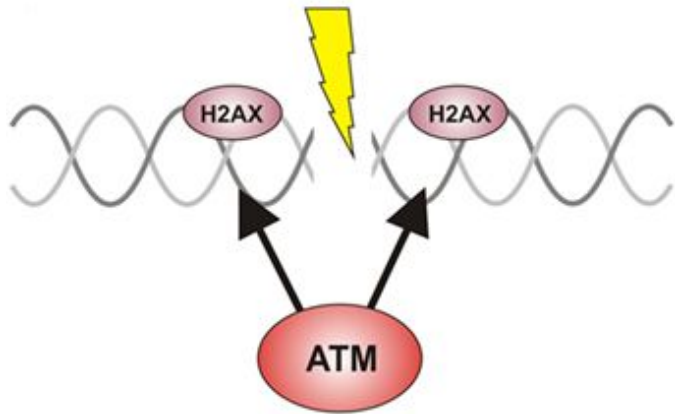


# REPARACIÓN ADN

## NON HOMOLOGOUS END JOINING

### NHEJ (Ku70)

$\gamma$ H2AX



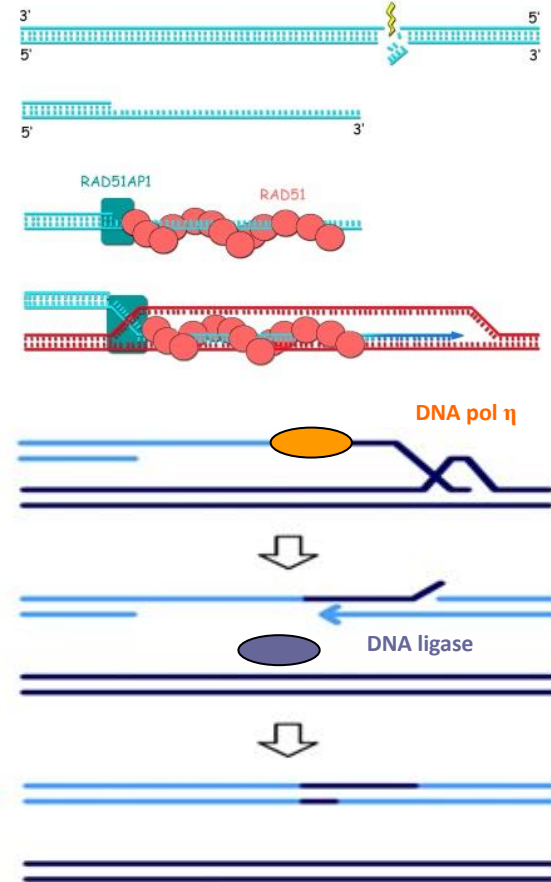
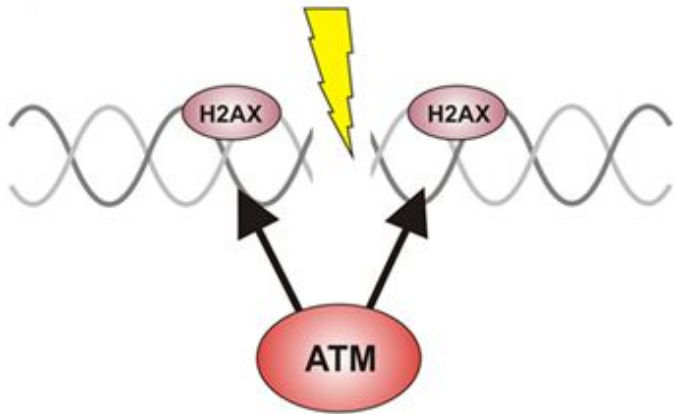
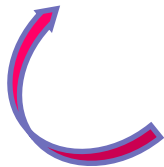
*Ku70/80 es un complejo reparador de ADN*

# REPARACIÓN ADN

## HOMOLOGOUS RECOMBINATION

### HR (Rad51)

$\gamma$ H2AX



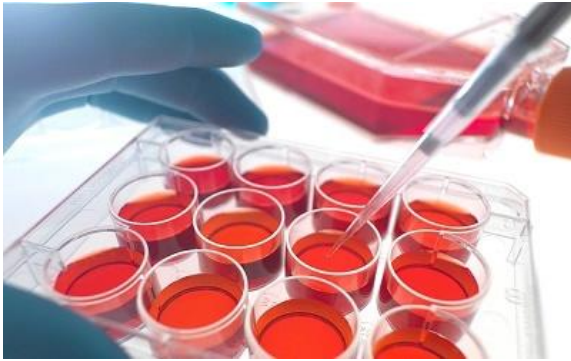
*Rad51 es una enzima reparadora de ADN*

# Objetivo

Evaluar el daño provocado y la respuesta inducida por BNCT en un carcinoma folicular de tiroides.



# Procedimiento

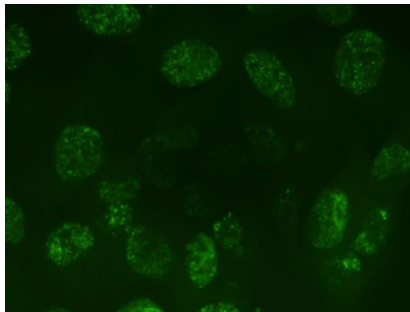


**+/- BPA**

*16 horas*

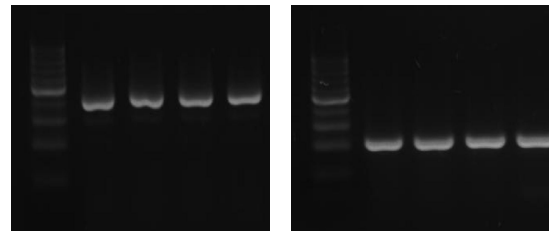


Double Strand Breaks (DSB)



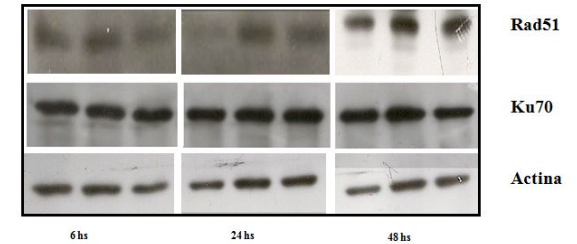
**Inmunofluorescencia  
 $\gamma$ H2AX**

Expresión Génica de enzimas  
de Reparación



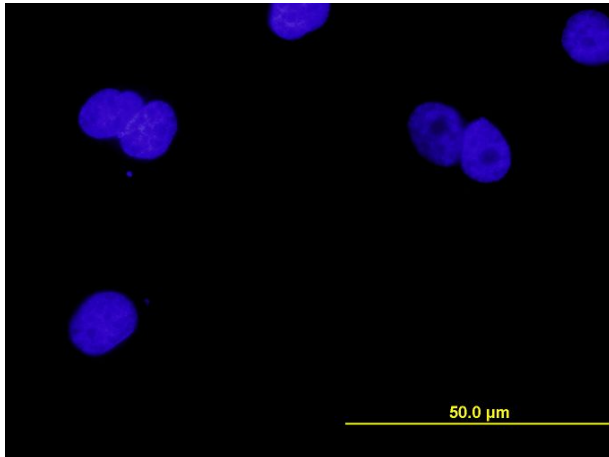
**PCR**

Expresión Proteica de enzimas  
de Reparación

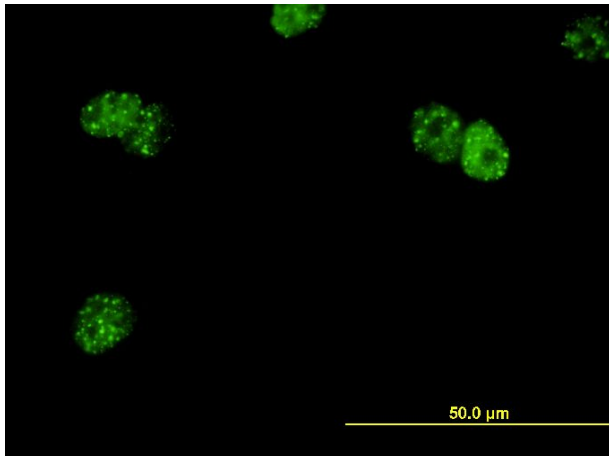


**Western Blot**

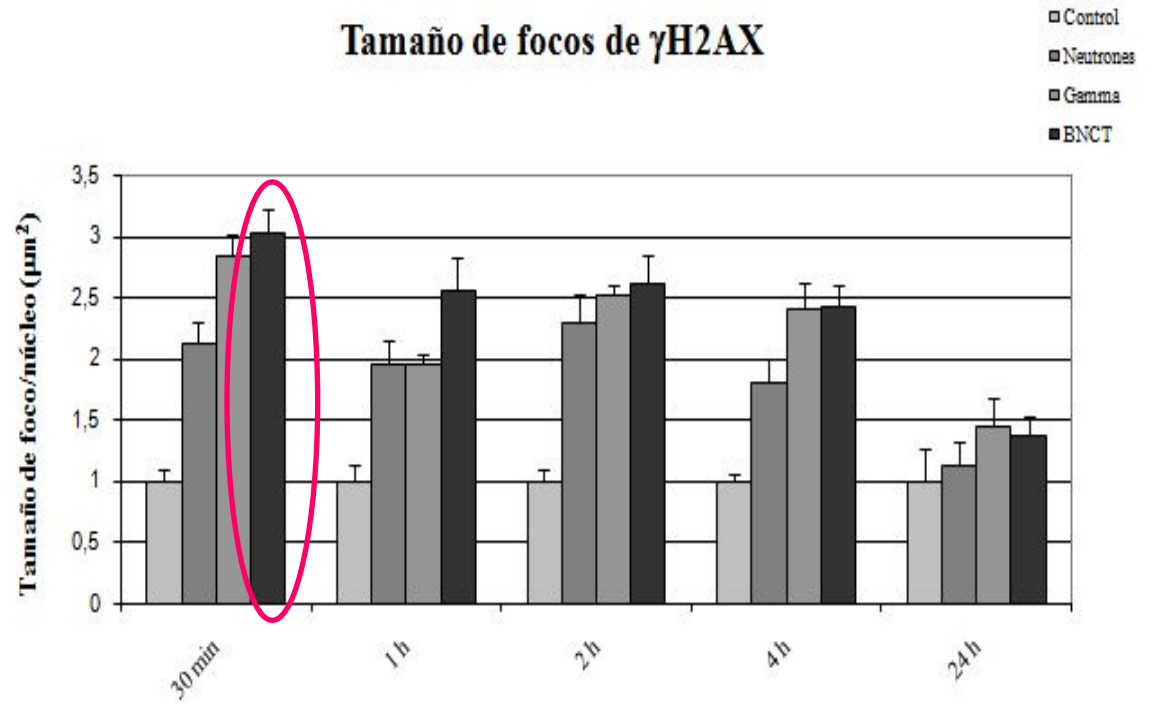
# DAPI



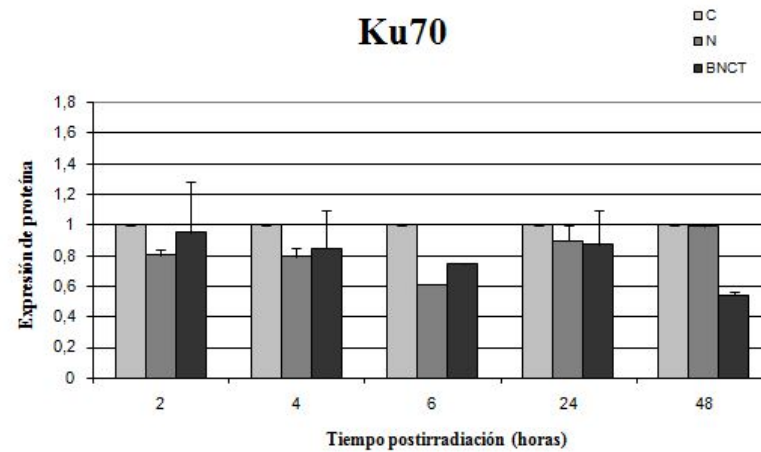
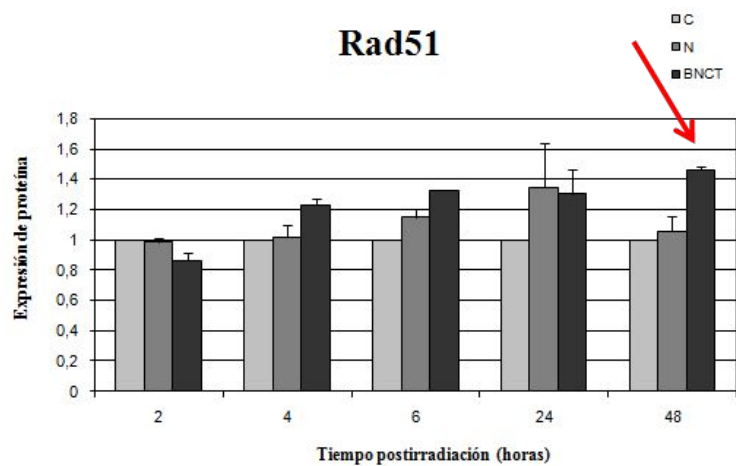
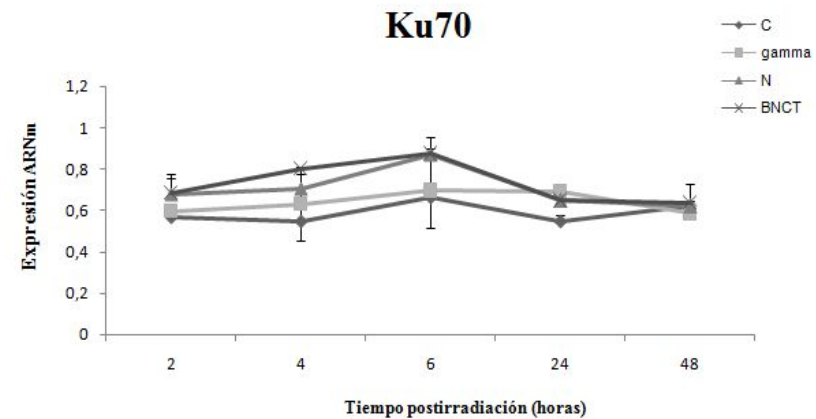
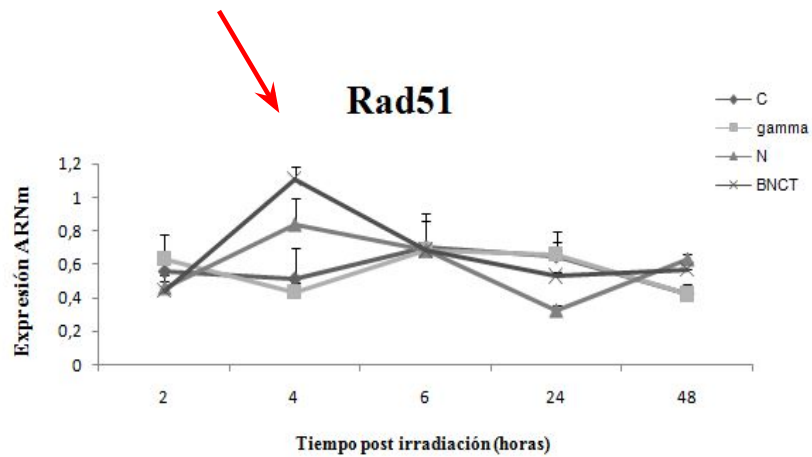
# $\gamma$ H2AX



## Tamaño de focos de $\gamma$ H2AX



Focos de  $\gamma$ H2Ax y marcación de núcleos celulares

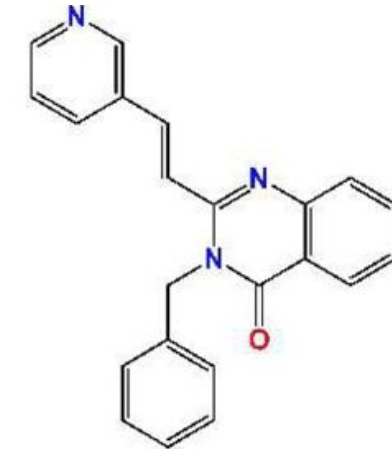


# Objetivo

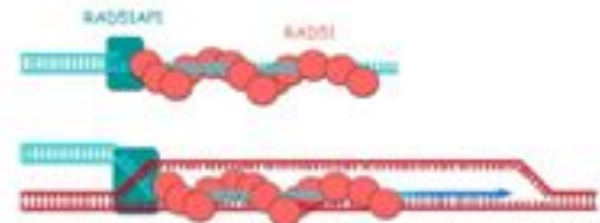
**Bloquear la vía de reparación por recombinación homóloga  
luego de BNCT con el fin de aumentar la eficacia  
terapéutica en células de carcinoma folicular de tiroides.**

# B02 INHIBIDOR ESPECÍFICO de Rad51

1. NIH Small Molecule Repository
2. Bloquea la unión de Rad51 al ADN en células humanas y animales interrumpiendo la actividad de intercambio y en consecuencia su reparación por recombinación homóloga
3. Ha demostrado aumentar la sensibilidad de células tumorales a agentes quimioterapéuticos como el cisplatino, la mitomicina C, la doxorubicina y bajas dosis de rayos x.



**NO SE HA PROBADO SU EFECTO EN  
COMBINACIÓN CON BNCT**



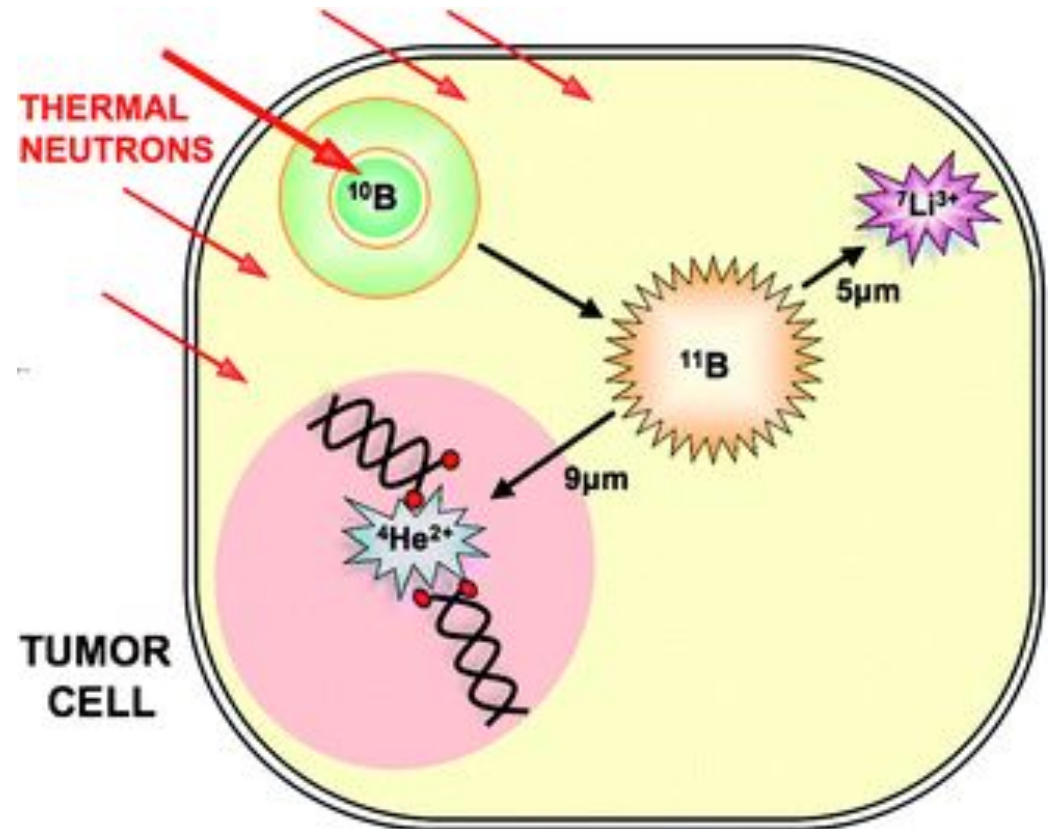
# ADN

Double strand breaks

↓ B02

Activación de HR

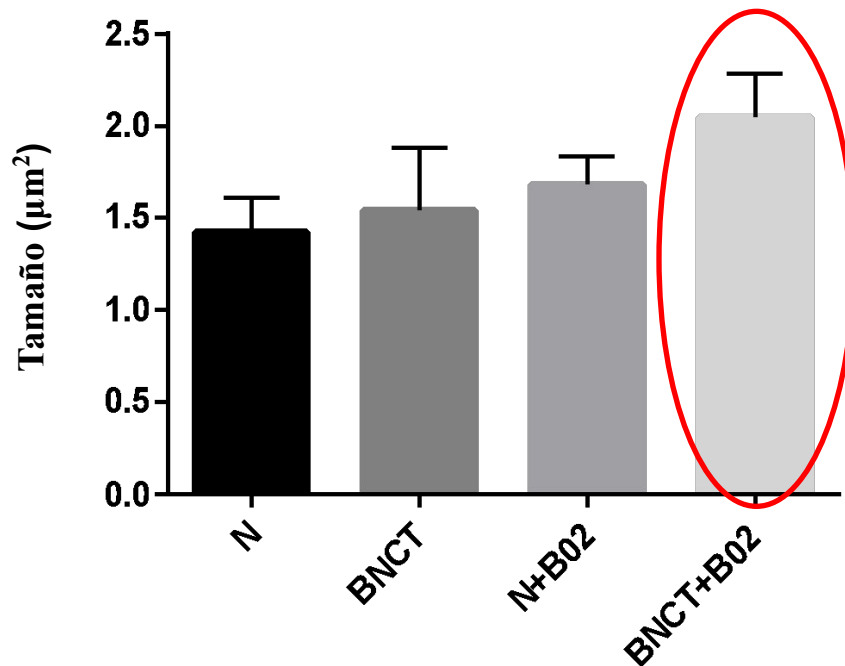
↘



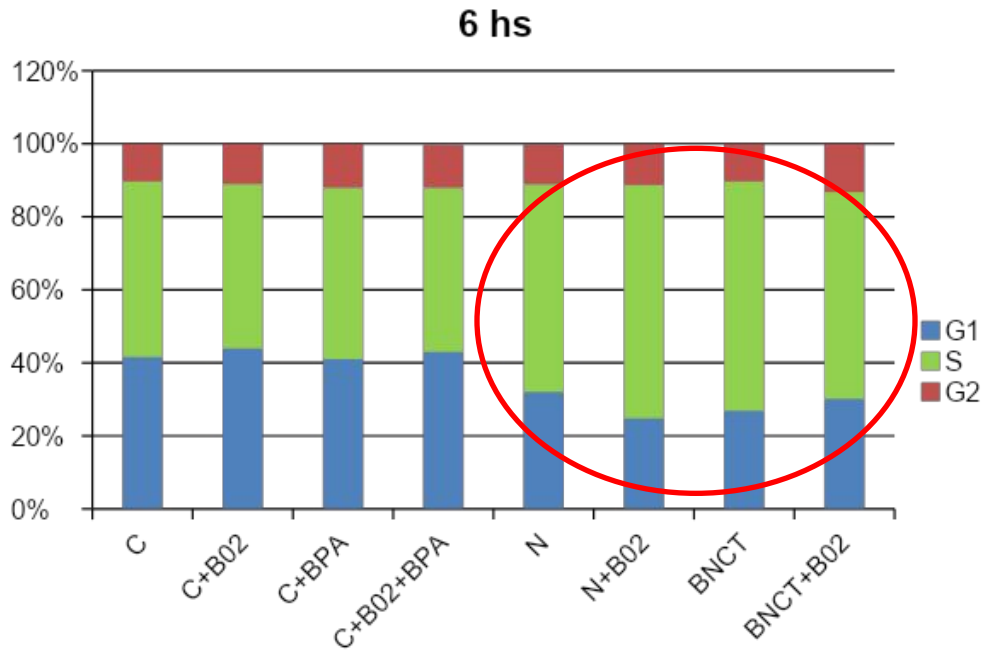
Muerte celular

# Resultados

**Medición del tamaño promedio de focos de  $\gamma$ H2AX por célula WRO luego 3 Gy de radiación con el haz de neutrones con o sin BPA y con o sin B02 a 30 minutos de la irradiación**



## Ciclo celular

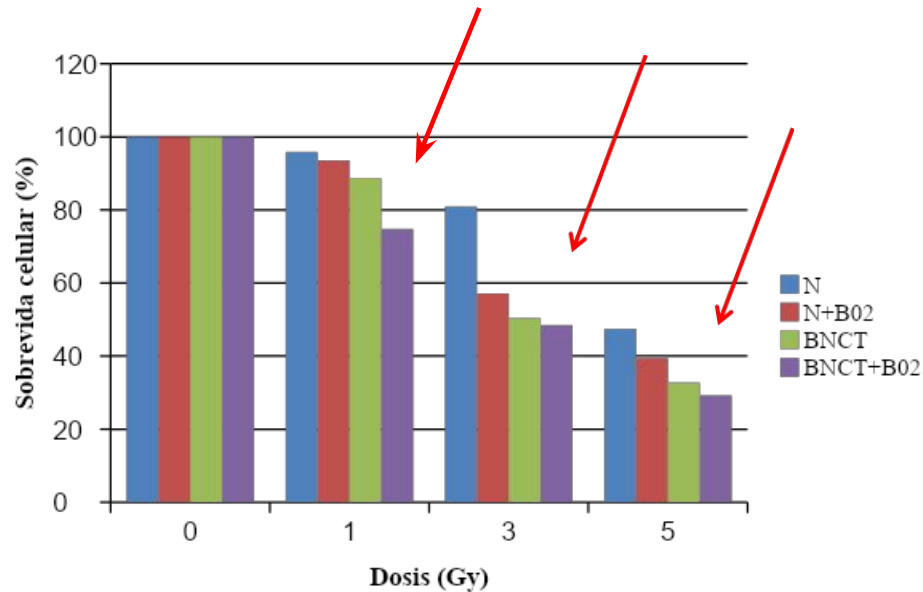


El porcentaje de células en fase S aumenta en los grupos irradiados y más aún en los grupos con B02 y BPA lo cual propicia la actividad de Rad51.

- ✓ **HR** prácticamente no contribuye a la reparación de DSBs durante la fase G1 del ciclo celular.
- ✓ Es mucho **más eficiente en la fase S** comenzando a decaer en G2/M.
- ✓ **Rad51** necesita un cromosoma homólogo o una cromátida hermana donde buscar **homología**.

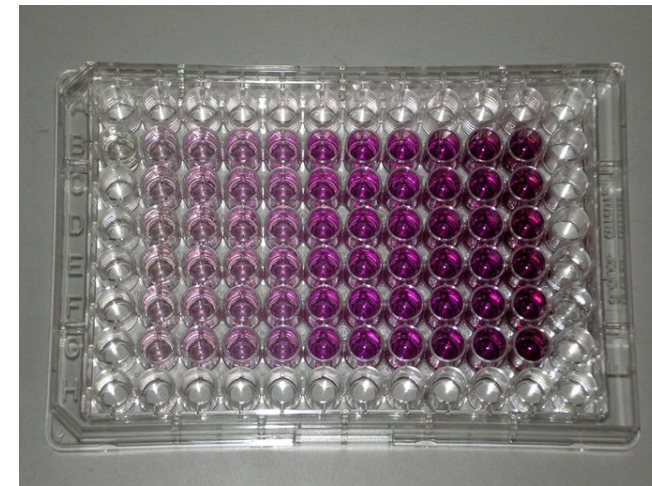


# Resultados




*El ensayo de viabilidad se basa en la reducción enzimática de la molécula de MTT a formazán produciendo un cambio de color. Las mediciones de absorbancia relativas a un control determinan el porcentaje restante de las células cancerosas viables después de su tratamiento.*

	N	N+B02	BNCT	BNCT+B02
0	100	100	100	100
1	96	93	89	75
3	81	57	50	48
5	47	39	33	29



# **Conclusiones**

- **El tamaño de los focos de daño es significativamente mayor en el grupo BNCT+B02 a los 30 minutos finalizada la irradiación en comparación a los demás grupos.**
- **Pudimos observar que la sobrevida celular disminuye en los grupos N y BNCT conforme aumenta la dosis de radiación y que al adicionar B02 antes de la irradiación el efecto es mayor ambos grupos .**



**En base a estos resultados y con el fin de optimizar la eficacia de la terapia proponemos a B02 como un potenciador de los efectos de BNCT en células de carcinoma folicular de tiroides.**



**Gracias!!**

**Carla Rodriguez**  
**[carodrig@cnea.gov.ar](mailto:carodrig@cnea.gov.ar)**

**División Bioquímica Nuclear, Dpto. Radiobiología. CNEA**