

## **BNCT *IN VIVO* EN TUMORES EXPERIMENTALES Y ESPONTÁNEOS EN EL RA-1**

Trivillin V.A.<sup>1</sup>, Heber E.M.<sup>1</sup>, Rao M.<sup>2</sup>, Itoiz M.E.<sup>1,3</sup>, Nigg D.W.<sup>4</sup>, Schwint A.E.<sup>1</sup>

Este estudio se realizó en colaboración con el grupo de profesionales y técnicos del RA-1 (CAC, CNEA).

<sup>1</sup>Departamento de Radiobiología, Centro Atómico Constituyentes (CAC), Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)

<sup>2</sup>Médica Veterinaria Oncóloga

<sup>3</sup>Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, UBA

<sup>4</sup>Idaho National Engineering and Environmental Laboratory (INEEL), EE.UU.

[schwint@cnea.gov.ar](mailto:schwint@cnea.gov.ar)

### **Introducción y objetivos**

Dentro del marco del proyecto Captura Neutrónica en Boro como Terapia para Tumores (BNCT) impulsado por la CNEA propusimos por primera vez el modelo de cáncer oral en la bolsa de la mejilla del hamster para estudios de BNCT. Este modelo de cáncer oral es el más aceptado a nivel internacional. Los protocolos de carcinogénesis inducen alteraciones precancerosas y carcinomas de células escamosas muy similares a las lesiones que se desarrollan en la mucosa oral humana. A diferencia de los modelos experimentales que se emplean para estudios de BNCT que se basan en la implantación de células tumorales en un lecho de tejido sano, la inducción de tumores en la bolsa de la mejilla del hamster imita un proceso de transformación maligna espontánea. Así, permite estudiar la respuesta al BNCT del tejido tumoral, el tejido circundante al tumor, el tejido normal que le da origen al tumor y los tejidos normales de cabeza y cuello cuya radiotoxicidad limita la dosis que se puede administrar al tumor. Demostramos la incorporación selectiva de cantidades terapéuticas de boronofenilalanina (BPA) (1) y de una porfirina borada (CuTCPH) (2) a los tumores de la bolsa de la mejilla del hamster. Asimismo se han realizado estudios de biodistribución con un compuesto borado alternativo (GB-10: Na<sub>2</sub><sup>10</sup>B<sub>10</sub>H<sub>10</sub>) y con la combinación de GB-10 y BPA que demostraron el potencial terapéutico del GB-10 y la combinación de compuestos borados. En un estudio de BNCT *in vivo* empleando BPA como compuesto borado realizado en el RA-6 (CAB) demostramos que el BNCT indujo una remisión completa de los tumores en el 78% de los 23 tumores tratados y remisión parcial en un 13% adicional de los tumores sin inducir daño en el tejido normal. Así se reportó por primera vez el éxito terapéutico del BNCT en el tratamiento del cáncer oral en un modelo experimental demostrando la posibilidad de una nueva aplicación del BNCT (3).

El personal técnico y profesional del RA-1 realizó las adaptaciones necesarias del haz térmico y de la facilidad física del RA-1 para adecuarla a la realización de BNCT *in vivo* con animales pequeños y medianos, llevando el flujo térmico a valores similares a los empleados internacionalmente en la terapia con BNCT. El objetivo del presente trabajo fue hacer estudios de irradiación (sin

administración del compuesto borado) y de BNCT in vivo con hamsters normales y portadores de tumor empleando BPA y/o GB-10 como compuestos borados con el haz térmico del RA-1 para evaluar posibles efectos radiotóxicos y el potencial terapéutico de los protocolos ensayados. Asimismo, y una vez demostrada la ausencia de efectos radiotóxicos en tejido normal, se encaró un estudio de factibilidad de tratamiento con BNCT en el RA-1 de tumores espontáneos de cabeza y cuello en felinos domésticos en estadio terminal. Este es el primer estudio de BNCT in vivo en tumores espontáneos en el país y el primer estudio de BNCT en felinos domésticos en el mundo. El tratamiento de tumores espontáneos en “pacientes reales” (animales domésticos) basado en estudios básicos ya realizados y actualmente en curso en el modelo de hamster, tiene relevancia clínica y contribuye al conocimiento de la terapia por BNCT.

### **Materiales y Métodos**

La caracterización preliminar del haz arrojó un valor de flujo térmico de aproximadamente  $4,5 \times 10^9$  n./cm<sup>2</sup>.seg y una componente gamma de 3 Gy/hora. De esta manera, la irradiación de 10 minutos empleada en el presente estudio resultaría en una fluencia térmica aproximada de  $2,7 \times 10^{12}$  n/cm<sup>2</sup> y una dosis gamma de 0.5 Gy al cuerpo.

Se realizó la inducción de tumores en la bolsa derecha de la mejilla del hamster mediante topicación con el carcinógeno dimetilbenzantraceno (DMBA) 3 veces por semana durante 3 meses. Una vez que se desarrollaron los tumores exofíticos (carcinomas de células escamosas), los animales fueron usados para estudios de BNCT.

Se realizaron los siguientes estudios:

1. Irradiación (sin administración de compuesto borado) de 6 hamsters normales. Se hizo un seguimiento macroscópico e histológico hasta 3 meses post-irradiación.
2. BNCT mediado por BPA (15.5 mg B/kg) en 8 hamsters portadores de 12 tumores. Se hizo un seguimiento macroscópico e histológico a lo largo de un mes post-BNCT.
3. BNCT mediado por GB-10 (50 mg B/kg) en 3 hamsters portadores de 5 tumores. Se hizo un seguimiento macroscópico e histológico a lo largo de un mes post-BNCT.
4. BNCT mediado por BPA (15.5 mg B/kg) en 5 hamsters normales. Se hizo un seguimiento macroscópico e histológico a lo largo de 2.5 meses post-BNCT.
5. BNCT mediado por GB-10 (50 mg B/kg) en 5 hamsters normales. Se hizo un seguimiento macroscópico e histológico a lo largo de 2.5 meses post-BNCT.
6. Estudio del efecto de BNCT a tiempos cortos post-tratamiento mediante estudios macroscópicos, histológicos y de índice de proliferación empleando la bromodeoxiuridina (BrdU) como marcador de síntesis de ADN.
  - a. BNCT mediado por BPA (15.5 mg B/kg) en 4 hamsters normales y 2 hamsters portadores de tumor. Sacrificio a las 22 y 44 horas post-BNCT.
  - b. BNCT mediado por GB-10 (50 mg B/kg) en 4 hamsters normales y 2 hamsters portadores de tumor. Sacrificio a las 22 horas post-BNCT.

- c. BNCT mediado por BPA + GB-10 en 1 hamster portador de tumor. Sacrificio 22 horas post-BNCT.
7. Estudio de biodistribución con BPA (15.5 mg B/kg) en 5 felinos domésticos con tumor espontáneo (1 caso de neurofibroma, 4 casos de carcinoma de células escamosas). Estudio de BNCT in vivo mediado por BPA en 3 casos. Seguimiento macroscópico e histológico.

## **Resultados**

Las irradiaciones no presentaron dificultades técnicas o clínicas. Se observó una total ausencia de efectos tóxicos radioinducidos.

La irradiación sola y el BNCT in vivo no causaron daño radioinducido alguno en los tejidos sanos de cabeza y cuello o en el cuerpo de los hamsters. El seguimiento macroscópico e histológico demostró la ausencia de alteraciones en tejido normal de hamster.

El BNCT in vivo mediado por BPA indujo control tumoral en el 50% de los tumores tratados sin daño a los tejidos normales o al tejido precanceroso circundante al tumor. El BNCT in vivo mediado por GB-10 indujo control tumoral en el 60% de los tumores tratados sin daño a los tejidos normales o al tejido precanceroso.

El material experimental correspondiente al estudio del efecto de BNCT a tiempos cortos post-tratamiento (protocolo 6) se encuentra actualmente en procesado y análisis.

El tratamiento por BNCT de felinos domésticos con tumor en estadio terminal de la enfermedad mostró un control local parcial del tumor y la total ausencia de efectos tóxicos radioinducidos.

## **Conclusiones**

El estudio realizado permite concluir que es factible tratar tumores experimentales y espontáneos de cabeza y cuello, en particular carcinomas de células escamosas, con BNCT empleando el haz térmico del RA-1. Se ha logrado un efecto terapéutico significativo sin causar daño al tejido normal.

Estudios en curso y futuros en colaboración con David Nigg (INEEL, EE.UU.) permitirán avanzar en la caracterización del haz y la posibilidad de blindaje del cuerpo de los animales.

## **Agradecimientos**

Se agradece en particular la valiosa colaboración de Jorge Castillo, Carlos Grizutti, Walter Zandonadi y José Zandonadi (†) quienes trabajaron con idoneidad y gran voluntad en la preparación de la facilidad del RA-1.

Se agradece la activa colaboración de Daniel Batistoni, Raúl Jiménez Rebagliati y Maria Julia Roberti (Dpto. Química, CAC) en la medición de Boro por ICP-OES.

## **Referencias**

Kreimann EL, Itoiz ME, Dagrosa A, Garavaglia R, Farías S, Batistoni D, Schwint AE. The Hamster Cheek Pouch as a Model of Oral Cancer for Boron Neutron Capture Therapy Studies: Selective Delivery of Boron by Boronophenylalanine. *Cancer Research* 2001a; 61: 8775-81.

Kreimann EL, Miura M, Itoiz ME, et al. Biodistribution of a carborane-containing porphyrin as a targeting agent for Boron Neutron Capture Therapy of oral cancer in the hamster cheek pouch. *Archives of Oral Biology* 2003; 48: 223-32.

Kreimann EL, Itoiz ME, Longhino J, Blaumann H, Calzetta O, Schwint AE. Boron Neutron Capture Therapy for the Treatment of Oral Cancer in the Hamster Cheek Pouch Model. *Cancer Research, Advances in Brief* 2001b; 61: 8638-42.

## ***IN VIVO* BNCT IN EXPERIMENTAL AND SPONTANEOUS TUMORS AT RA-1 REACTOR**

Trivillin V.A.<sup>1</sup>, Heber E.M.<sup>1</sup>, Rao M.<sup>2</sup>, Itoiz M.E.<sup>1,3</sup>, Nigg D.W.<sup>4</sup>, Schwint A.E.<sup>1</sup>

This study was carried out in collaboration with RA-1 staff (CAC, CNEA).

<sup>1</sup>Departamento de Radiobiología, Centro Atómico Constituyentes (CAC), Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)

<sup>2</sup>Médica Veterinaria Oncóloga

<sup>3</sup>Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, UBA

<sup>4</sup>Idaho National Engineering and Environmental Laboratory (INEEL), EE.UU.

[schwint@cnea.gov.ar](mailto:schwint@cnea.gov.ar)

### **Abstract**

Within the search for new applications of Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) and the basic research oriented towards the study of BNCT radiobiology to optimize its therapeutic gain, we previously proposed and validated the hamster cheek pouch oral cancer model and showed, for the first time, the success of BNCT to treat oral cancer in an experimental model. The staff of the RA-1 Reactor (Constituyentes Atomic Center) adapted the thermal beam and physical set-up to perform *in vivo* BNCT of superficial tumors in small animals. We performed a preliminary characterization of the thermal beam, performed beam only irradiations of normal and tumor bearing hamsters and *in vivo* BNCT of experimental oral squamous cell carcinomas in hamsters mediated by boronophenylalanine (BPA) and GB-10 (Na<sub>2</sub><sup>10</sup>B<sub>10</sub>H<sub>10</sub>). Having demonstrated the absence of radiotoxic effects in healthy tissue and a therapeutic effect of *in vivo* BNCT in hamster cheek pouch tumors employing the RA-1 thermal beam, we performed a feasibility study of the treatment by BNCT of 3 terminal cases of spontaneous head and neck squamous cell carcinoma in cats following the corresponding biodistribution studies. This was the first treatment of spontaneous

tumors by BNCT in our country and the first treatment by BNCT in cats worldwide. This preclinical study in terminal cases showed significant tumor control by BNCT with no damage to normal tissue.