

ADJUSTMENT METHODOLOGY FOR PRELIMINARY STUDY ON THE DISTRIBUTION OF BONE TISSUE BORO . POTENTIAL THERAPEUTIC APPLICATIONS .

* Brandizzi D1, Olivera MS2, Nievas SI2, Dagrosa A1, M1 Carpano , Cabrini RL1 3

1 Division of Pathology and 2 Dept of Radiobiology BNCT Coordination Department of the National Atomic Energy Commission (CNEA), 3 Pathology Department , Faculty of Dentistry, University of Buenos Aires. brandizzi@cnea.gov.ar

Abstract

Boron is an element that has an affinity for bone tissue and represents a considered element in bone health . Other boron compounds are used in the Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) in the form of sodium borocaptate (BSH) and borono phenylalanine (BPA). The results of clinical trials up to date are encouraging but not conclusive . At an experimental level , some groups have applied BNCT in osteosarcomas . We present preliminary methodological adjustments for the presence of boron in bone.

AJUSTES METODOLÓGICOS PRELIMINARES PARA ESTUDIAR LA DISTRIBUCIÓN DEL BORO EN TEJIDO ÓSEO. POSIBLES APLICACIONES TERAPEUTICAS.

*Brandizzi D¹, Olivera MS², Nievas SI², Dagrosa A¹, Carpano M¹, Cabrini RL^{1,3}

¹ División Patología del Dpto de Radiobiología y ² Dpto. Coordinación BNCT de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA); ³ Cátedra de Anatomía Patológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires. brandizzi@cnea.gov.ar

Resumen

El boro es un elemento que muestra afinidad por el tejido óseo y representa un elemento considerado en la salud ósea. Otros compuestos borados se usan usadas en la Terapia por Captura Neutrónica en Boro (BNCT) bajo la forma de borocaptato de sodio (BSH) y la borofenilalanina (BPA). Los resultados de los ensayos clínicos hasta la fecha son alentadores pero no concluyentes. A nivel experimental, algunos grupos han aplicado el BNCT en osteosarcomas. En este trabajo presentamos ajustes metodológicos preliminares para estudiar la presencia del boro en el hueso y los niveles de concentración.

Introducción

El tejido óseo está compuesto por una matriz orgánica-mineral que presenta propiedades de intercambio que promueven la aceptación y sustitución de diferentes especies químicas (iones). El boro es un elemento al que se le asigna relativa importancia como suplemento dietario, en especial en el tratamiento de pacientes con cuadros osteopénicos^{1,2}.

Si bien el mecanismo de acción del boro para la salud ósea es desconocido, se ha comprobado que estabiliza y extiende la vida media de vitamina D y los estrógenos. Los compuestos borados disponibles comercialmente y que se usan en pacientes son el borocaptato de sodio (BSH) y la borofenilalanina (BPA); éste último es un análogo borado de la fenilalanina, un aminoácido precursor de la síntesis de melanina. El BPA es una de las drogas más usadas en la Terapia por Captura Neutrónica en Boro (BNCT), que se encuentra en etapa de ensayo clínico fase I/II, Europa y a partir de 2003 en la Argentina^{4,5}. En Japón se usa como tratamiento para glioblastoma multiforme y melanoma periférico y metastático a cerebro. Más recientemente, se ha explorado el potencial de BNCT para tratar tumores de cabeza y cuello^{6,7}; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y metástasis hepáticas¹⁰.

Los resultados de los ensayos clínicos hasta la fecha son alentadores pero no concluyentes.

A nivel experimental, algunos grupos han aplicado el BNCT en osteosarcomas². Estos antecedentes evidenciarían cierta afinidad del boro por el tejido óseo. Nuestro grupo está trabajando en evaluar la factibilidad del uso de BNCT en cáncer bucal. Una de las principales complicaciones graves asociadas a la radiación, que afecta al hueso de los maxilares, es conocida como osteoradionecrosis.

En este trabajo presentamos ajustes metodológicos preliminares para estudiar la presencia del boro en el hueso.

Materiales y métodos:

Hemos desarrollado un modelo experimental en rata Wistar de aproximadamente 150g, que nos permite estudiar dos aspectos del tejido óseo: a- El hueso en crecimiento, tomando como sensor la zona de osificación encondral activa (patela de la rata) y b- El tejido óseo aislado, en

donde existe una alta cantidad de trabéculas y escasa médula tanto adiposa como hematopoyética. Se administró una única dosis de 350 mg de BPA/kg de peso por vía intraperitoneal. Los animales fueron sacrificados tres horas después de la aplicación, y se extrajeron muestras para evaluar la captación y acumulación de boro en hígado, riñón, sangre y hueso. Se determinó la concentración de boro en cada tejido por mediciones en equipo ICP-OES. Previamente las diferentes muestras se sometieron a digestión ácida; en el caso de tejido óseo, la zona de crecimiento endocondral de patela y fémur fueron digeridas en ácido nítrico concentrado a 60° C durante una hora, se diluyeron apropiadamente y se agregó berilio como estándar interno a cada una. Además la patela contralateral fue estudiada radiográficamente y se realizó el correspondiente estudio histológico para determinar la osificación endocondral activa.

Resultados

Se estudiaron en cortes histológico el hueso en crecimiento, tomando como sensor la zona de osificación endocondral activa (patela de la rata) y el tejido óseo aislado, en donde existe una alta cantidad de trabéculas y escasa médula tanto adiposa como hematopoyética. En la microfotografías (figura 1), se observa la zona diafisaria del fémur en un corte transversal, donde se ha eliminado la médula ósea (campo "A"). Esta zona representa la matriz inorgánica o hueso cortical con poca capacidad remodelativa; nuestro modelo para el estudio de hueso estático. En la patela de la rata (campo "B") zona epífisaria de dos huesos en relación por la articulación. En dicha imagen se observa dos zonas de crecimiento óseo, osificación endocondral; modelo para el estudio del hueso activo.

En la tabla 1 se observan los resultados de la determinación de Boro en hígado, sangre, riñón y hueso. Se determino obtuvieron valores superiores de boro en hueso que en hígado y sangre.

Discusión:

El boro es un elemento que participa en el metabolismo óseo e incluso se lo utiliza para en algunos tratamientos en pacientes osteopénicos, con el carácter de ser un microelemento. También otras formas de compuestos borados (BPA y BSH), son usados en la Terapia por Captura Neutrónica en Boro (BNCT)^{4,5}. Presentamos un modelo para el estudio del boro en hueso en crecimiento (remodelación activa), que simularía lo que sucede en los tumores con capacidad osteogénica; y el hueso estático o hueso que presenta baja capacidad de remodelativa. En esta etapa preliminar hemos validado la metodología para determinar boro en hueso por ICP-OES.

A nivel experimental, algunos grupos han aplicado el BNCT en osteosarcomas². Nuestro modelo permitirá estudiar específicamente la afinidad del hueso en la zona de formación de tejido óseo. También esta metodología nos permitirá estudiar que pasa con el tejido óseo en relación a las zonas expuesta a la radiación en BNCT. Dicha análisis toma relevancia especialmente en la aplicación BNCT en el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello. La osteoradionecrosis representa un complicación compleja de resolución en la radioterapia de esta zona del cuerpo, que debería ser analizada aisladamente.

Los ajustes metodológicos implementados permitieron detectar cantidades significativa de boro en hueso. En estudios futuros proyectamos aplicar esta metodología para estudiar la matriz ósea estática y hueso en crecimiento para diferentes tiempos de administración y realizar la correlación con autoradiografías.

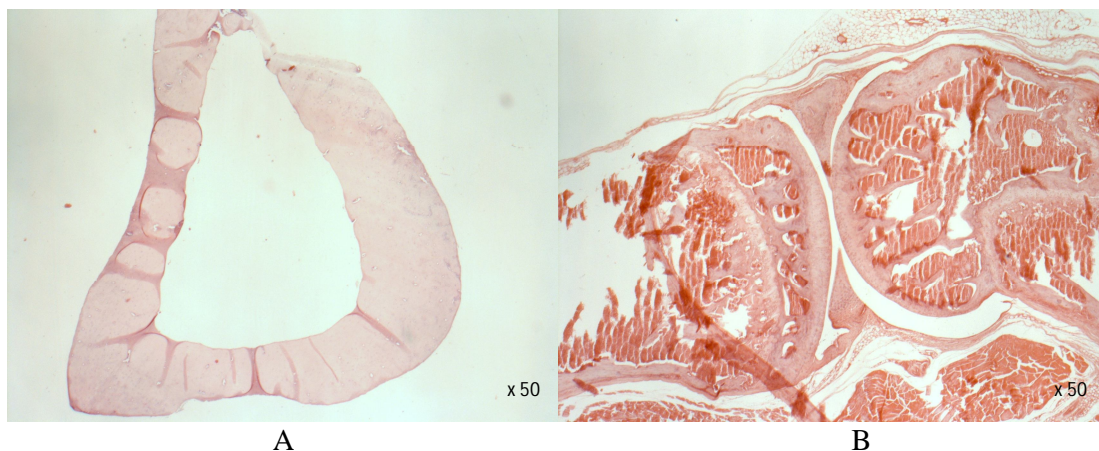


Figura 1: Microfotografías de dos cortes histológicos de hueso de rata Wistar. A: Corte sagital de en zona diafisiaria del femur, representativa la matriz inorgánica o hueso cortical. B: En la patela de la rata zona epifisiaria de dos huesos en relación por la articulación, donde se observa dos zonas de osificación endocondral.

Rata Wistar 150mg	Higado	Hueso	Sangre	Riñon
1	7.77	13.12	8.28	19.93
2	7.88	11.58	7.51	17.02
3	4.42	6.83	3.87	8.44

Tabla 1: Resultado de medida por ICP-OES en muestras de la zona de crecimiento encondral de patela de rata Wistar

Referencias:

- 1 Rex E. Newnham. Essentiality of Boron for Healthy Bones and Joint. *Environ Health Perspect* 102(Suppl 7):83-85 (1994)
- 2 James G. Penland Dietary Boron, Brain Function, and Cognitive Performance James G. *Environ Health Perspect* 102(Suppl 7): 65-72 (1994)
- 3 Coderre JA and Morris GM. The radiation biology of boron neutron capture therapy. *Radiat Res* 1999; 151:1-18
- 4 Gonzalez SJ, Bonomi MR, Santa Cruz GA, Blaumann HR, Calzetta Larrieu OA, Menendez P, Jimenez Rebagliati R, Longhino J, Feld DB, Dagrosa MA, Argerich C, Castiglia SG, Batistoni DA, Liberman SJ, Roth BM. First BNCT treatment of a skin melanoma in Argentina: dosimetric analysis and clinical outcome. *Appl Radiat Isot.* 2004 Nov;61(5):1101-5
- 5 Barth RF, Coderre JA, Vicente MG, Blue TE. Boron neutron capture therapy of cancer: current status and future prospects. *Clin Cancer Res.* 2005 Jun 1;11(11):3987-4002. Review.

- 6 Kato I, Ono K, Sakurai Y, Ohmae M, Maruhashi A, Imahori Y, Kirihata M, Nakazawa M, Yura Y. Effectiveness of BNCT for recurrent head and neck malignancies. *Appl Radiat Isot.* 2004 Nov;61(5):1069-73.
- 7 Kankaanranta L, Seppälä T, Koivunoro H, Saarilahti K, Atula T, Collan J, Salli E, Kortensniemi M, Uusi-Simola J, Mäkitie A, Seppänen M, Minn H, Kotiluoto P, Auterinen I, Savolainen S, Kouri M, Joensuu H. Boron Neutron Capture Therapy in the Treatment of Locally Recurred Head and Neck Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007 Aug 3
- 8 Kankaanranta L, Seppälä T, Koivunoro H, Saarilahti K, Atula T, Collan J, Salli E, Kortensniemi M, Uusi-Simola J, Välimäki P, Mäkitie A, Seppänen M, Minn H, Revitzer. Boron neutron capture therapy in the treatment of locally recurred head-and-neck cancer: final analysis of a phase I/II trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012 Jan 1;82(1):e67-75. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.09.057. Epub 2011 Feb 6.
- 9 Suzuki M, Kato I, Aihara T, Hiratsuka J, Yoshimura K, Niimi M, Kimura Y, Ariyoshi Y, Haginomori SI, Sakurai Y, Kinashi Y, Masunaga SI, Fukushima M, Ono K, Maruhashi A. Boron neutron capture therapy outcomes for advanced or recurrent head and neck cancer. *J Radiat Res.* 2013 Aug 16. [Epub ahead of print]
- 10 Zonta A, Prati U, Roveda L, Ferrari C, Zonta S, Crerici AM, Zonta C, Pinelli T, Fossati F, Altieri S, Bortoussi S, Bruschi P, Nano R, Barni S, Chiari P and Mazzini G. Clinical lessons from the first applications of BNCT on unresectable liver metastases. *J of Physics. Conference Series* 41 (2006) 484-495.
- 11 C.F. Hsu a, S.Y.Lin a, J.J.Peir b, J.W.Liao c, Y.C.Lin d, F.I.Chou a,b,n Potential of using boric acid as a boron drug for boron neutron capture therapy for osteosarcoma *Applied Radiation and Isotopes* 69 (2011) 1782–1785.