

# El rol de los estudios radiobiológicos en BNCT

(Boron Neutron Capture Therapy - BNCT)

Mandy Schwint

Dra. en Ciencias Biológicas (FCEyN, UBA)  
Jefa División Patología de la Radiación

Departamento de Radiobiología  
Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)  
Investigadora CONICET

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



Estudios traslacionales de BNCT en modelos experimentales de cancer y precancer oral, metástasis hepáticas, metástasis pulmonares y artritis reumatoidea. Estudios preclínicos de BNCT en perros y gatos con tumores espontáneos de cabeza y cuello

---

### Nuestro grupo de trabajo:

Investigador Responsable: Dra. Mandy Schwint (CNEA-CONICET)

Co-director: Dra. Veronica Trivillin (CNEA-CONICET)

Dra. Andrea Monti Hughes (CNEA-CONICET)

Dra. Marcela Garabalino (CNEA)

Dr. Emiliano Pozzi (CNEA)

Lic. Elisa Heber (CNEA)

División Patología de la Radiación

Departamento de Radiobiología

Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)



# Multidisciplinary project

## Collaborations and Acknowledgements:

---

- S Altieri, S Bortolussi et al., University of Pavia, Italy
- Lucas Colombo and Jorge E. Cardoso - Instituto de Oncología Angel H. Roffo
- David W Nigg - Idaho National Lab, USA
- Frederick Hawthorne, Satish Jalasatgi et al., University of Missouri, USA
- ME Itoiz & RF Aromando - Facultad de Odontología, UBA
- Department of Chemistry, CNEA
- Professional and technical staff of RA-1, RA-3 and RA-6 Nuclear Reactors, CNEA
- Department of Physics, CNEA
- Claudio Devida et al., ICP-MS, CNEA
- Department of Instrumentation and Control, CNEA
- Department of Research and Production Reactors, CNEA
- Department of Nuclear Engineering, CNEA
- Dr. John Hopewell, Oxford University, United Kingdom
- Sergio Ferraris et al., Universidad Maimónides
- Gisele Saint Martin and Agustina Portu (CNEA)
- Sara González and Gustavo Santa Cruz et al. (CNEA)
- Vanina Medina et al., Faculty of Biochemistry, University of Buenos Aires
- Guillermo Marshall and Nahuel Olaiz, Faculty of Exact and Natural Sciences, University of Buenos Aires

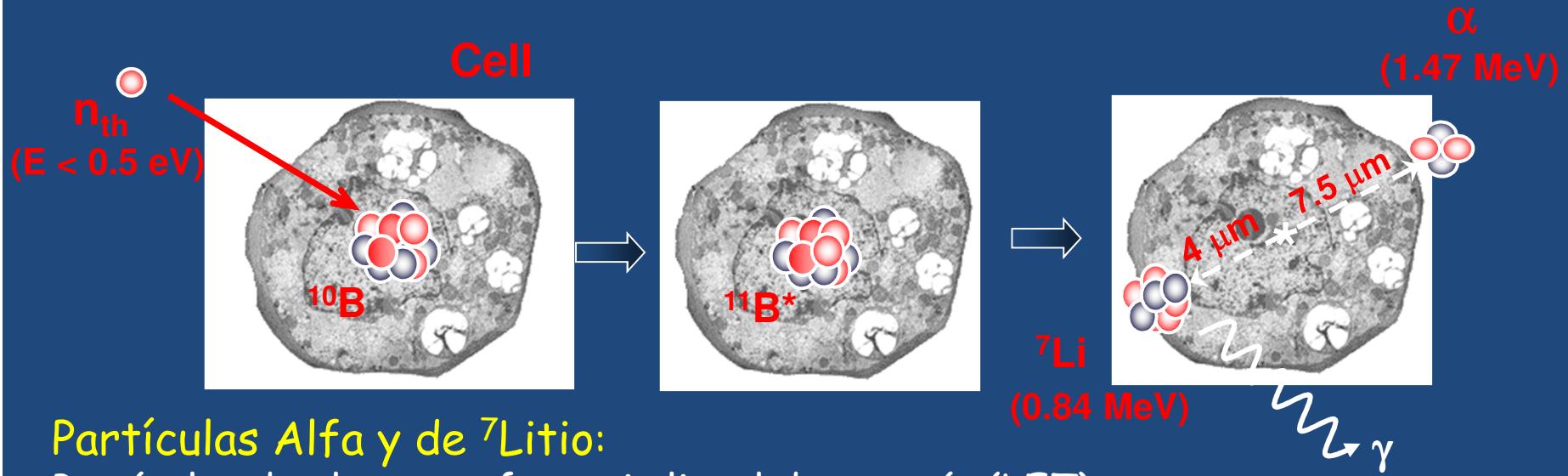
*Support: CNEA, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT); Instituto Nacional del Cáncer, Ministerio de Salud, Argentina; International Institute for Nano and Molecular Medicine, University of Missouri, through Idaho National Laboratory, USA*

# QUE ES BNCT?

La Terapia por Captura Neutrónica en Boro es una Modalidad Terapéutica Binaria que involucra la acumulación selectiva de portadores de  $^{10}\text{B}$  en el tumor y la subsiguiente irradiación con un haz de neutrones, generando partículas letales de un rango de 5-9 micrones.

El BNCT dañaría selectivamente las células tumorales con escaso daño al tejido normal.

# La reacción de BNCT: $^{10}\text{B}(\text{n},\alpha)^7\text{Li}$



## Partículas Alfa y de $^7$ Litio:

Partículas de alta transferencia lineal de energía (LET)

Valores iniciales de LET en tejido: 180 a 370 keV/ $\mu\text{m}$

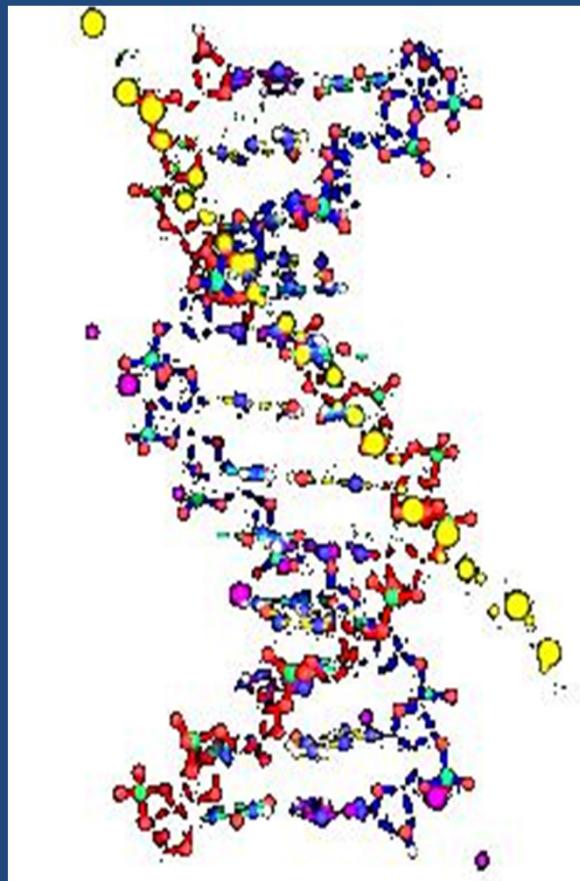
Pierden su energía a lo largo de distancias de menos de 10  $\mu\text{m}$

- Si el Boro-10 se incorpora preferencialmente a tumor entonces la reacción de captura ocurrirá mayormente en las células tumorales.
- Las partículas de alto LET producidas por la reacción de captura viajan solamente la distancia de aproximadamente una célula.

Así, BNCT dañaría las células tumorales selectivamente, preservando el tejido normal.

# Efecto letal de las partículas de alto LET (elevada ionización específica)

---



Roturas doble cadena de ADN

Efecto directo

Poca reparación - efecto mayormente letal

Para que ocurra un número suficiente de reacciones de captura para matar a la célula, se deben acumular  $10^9$  átomos de  $^{10}\text{B}$  (aprox. 30 ppm) en cada célula neoplásica

**BNCT dose components** with different LET will have different RBE in tumor and normal tissue

Los protocolos de BNCT idealmente se diseñan para maximizar la componente boro de la dosis y minimizar la dosis de fondo

- **Alpha particles:** 1.47 MeV, range 9  $\mu\text{m}$ , LET: 196 keV/ $\mu\text{m}$ , produced by the capture reaction of thermal neutrons ( $\leq 0.4 \text{ eV}$ ) in  $^{10}\text{B}$  in the  $^{10}\text{B}(\text{n},\alpha)^7\text{Li}$  reaction.
- **$^7\text{Lithium particles}$ :** 0.84 MeV, range 5  $\mu\text{m}$ , LET: 162 keV/ $\mu\text{m}$ , produced by the capture reaction of thermal neutrons in  $^{10}\text{B}$  in the  $^{10}\text{B}(\text{n},\alpha)^7\text{Li}$  reaction.
- **Gamma component in the beam.**
- **Gamma photons:** 2.2 MeV, produced by the capture of thermal neutrons in **Hydrogen** in the reaction  $^1\text{H}(\text{n}, \gamma) ^2\text{H}$ .
- **High LET protons:** 590 KeV, produced by the capture of thermal neutrons in **Nitrogen** in the  $^{14}\text{N}(\text{n}, \text{p}) ^{14}\text{C}$  reaction.
- **"Recoil" protons:** > 10 KeV, produced by the collision of **fast neutrons** in the epithermal beam with **H nuclei** in the reaction  $^1\text{H}(\text{n}, \text{n}^1) \text{p}$ .



Unavoidable, non-specific background dose, from a mixture of high- and low-LET radiation components

La dosis máxima que se puede administrar a tumor está condicionada por:

---

- Radiosensibilidad de los tejidos normales con concentración significativa de boro-10 en el volumen de tratamiento
- Contenido de boro absoluto y relativo (Tumor/Tejido Normal; Tumor/Sangre)

Se prescribe la dosis al tejido normal (teniendo en cuenta la radiotolerancia del órgano/tejido de riesgo)

# Radiobiological aspects- a simplified overview of differences between conventional radiotherapy and BNCT

## Conventional Radiotherapy

- Low LET
- RBE = 1 (DRF must be applied at < 1 Gy/min)
- Indirect effect (free radicals)
- Tumor hypoxia and tumor cell cycle-dependent radiation sensitivity
- Predominantly single-strand breaks - sublethal damage - significant repair
- Fractionation favors normal tissue repair
- Multiple fractions
- Predominantly geometrical targeting

## BNCT

- High LET - (low LET) mixed field
- RBE > 1
- Direct effect
- Overall, no manifest difference in tumor vs normal tissue sensitivity to high LET particles. Sensitivity depends largely on boron uptake and micro-localization
- Predominantly double-strand breaks - lethal damage - scarce repair
- Fractionation offers little advantage (except in the case of potential boron re-targeting)
- Single fraction
- Predominantly biological targeting - potentially effective to treat infiltrating cells and micrometastases since it is based on biological rather than geometric targeting.

# Compuestos borados: requerimientos

---

- Enriquecidos en  $^{10}\text{B}$  (abundancia natural 20%)
- Baja toxicidad sistémica a dosis terapéuticas
- Incorporación selectiva a tumor  
La selectividad condiciona la ventaja terapéutica tumor/tejido normal.
- Clearance rápido de sangre y tejido normal y persistencia en tumor durante la irradiación.

# Compuestos borados: requerimientos

---

- El contenido absoluto de boro en tumor es muy importante
  - Debe ser suficientemente alto ( $10^9$  atomos  $^{10}\text{B}$ /célula ó aprox. 20-30 ppm) para que ocurra un número suficiente de reacciones  $^{10}\text{B}(\text{n},\alpha)^7\text{Li}$ . Los productos de alto LET de esta reacción (partículas alfa y núcleos de  $^7\text{Li}$ ) son los efectores específicos de daño tumoral.
  - Concentraciones altas de boro en tumor aumentan la proporción de la dosis total entregada por la componente de dosis específica para tumor. La dosis de fondo afecta tumor y tejido normal por igual.
  - A la misma relación tumor/tejido normal, una concentración absoluta alta de boro en tumor es una ventaja ya que permite reducir el tiempo de irradiación, con la concomitante reducción en la dosis de fondo.

# Compuestos borados: requerimientos

---

- Targeting de todas las poblaciones tumorales es esencial para el éxito de BNCT  
Las poblaciones tumorales con escaso contenido de boro serán refractarias a BNCT.
- La microdistribución de boro condiciona la eficacia terapéutica de BNCT

Maximizar/optimizar la incorporación de boro a tumor es la manera más efectiva de optimizar BNCT

Por el contrario, aumentar la exposición a neutrones aumenta la dosis de fondo no específica a tejido normal sin lograr una ganancia neta en la ventaja terapéutica

Dadas las múltiples variables que condicionan la eficacia terapéutica de BNCT,  
son fundamentales  
los estudios radiobiológicos  
en modelos experimentales apropiados para determinar  
la real eficacia terapéutica de un protocolo de  
tratamiento.

El potencial terapéutico de un portador de  $^{10}\text{B}$  para  
BNCT solamente puede ser interpretado  
fehacientemente en  
estudios radiobiológicos de BNCT *in vivo*

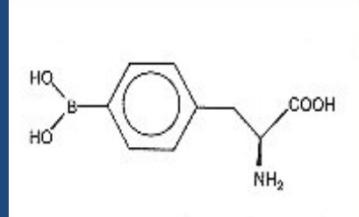
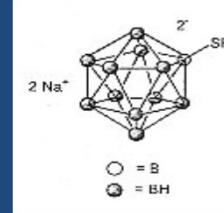
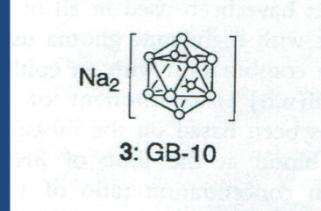
*Los estudios radiobiológicos en modelos *in vivo* contribuyen a:*

- \* explorar nuevos targets para BNCT
- \* evaluar nuevos compuestos borados
- \* desarrollar estrategias para optimizar el targeting de boro empleando compuestos borados aprobados para su uso en humanos
- \* expandir el conocimiento de la radiobiología de BNCT...

Optimizando la eficacia terapéutica de BNCT para distintas patologías y contribuyendo a diseñar protocolos clínicos eficaces y seguros

Los resultados de estudios radiobiológicos no se pueden extrapolar directamente a un escenario clínico pero brindan una guía valiosa que ahorra tiempo, recursos y esfuerzo y minimiza los riesgos a la hora de diseñar los protocolos clínicos.

Much effort has been expended to search for the “ideal”  $^{10}\text{B}$  compound that would potentially replace the 3 “imperfect” compounds currently authorized for use in man:

- Boronophenylalanine (BPA)  
The chemical structure shows a central phenyl ring attached to a boron atom. The boron atom is bonded to two hydroxyl groups (HO) and one carboxylic acid group (-COOH). A single bond extends from the ring to a side chain that includes an amino group (-NH<sub>2</sub>) and a carboxylic acid group (-COOH).
- Sodium borocaptate (BSH)  
A diagram showing a cluster of 12 boron atoms (B) forming a truncated icosahedron. Two sodium ions (2 Na<sup>+</sup>) are shown outside the cluster. One boron atom is bonded to three sulfur atoms (S), each with a thiol group (-SH). A legend indicates that open circles represent B and filled circles represent BH.
- Sodium decahydrodecaborate (GB-10)  
A diagram showing a cluster of 12 boron atoms (B) forming a truncated icosahedron. Two sodium ions (Na<sub>2</sub>) are shown outside the cluster. A legend indicates that open circles represent B and filled circles represent BH. Below the diagram is the label "3: GB-10".

# Ninguno de los compuestos borados “nuevos” ha llegado a la etapa de evaluación en un estudio de biodistribución clínico

---

Aún si se identificara un portador de boro prometedor en estudios *in vitro*, todavía habría que atravesar diversas etapas:

- Estudios de biodistribución y toxicidad en modelos experimentales apropiados de tumor en animales
- Articulación de los datos experimentales con la clínica (estudios de biodistribución en pacientes). Esto es costoso, no tiene un beneficio directo para el paciente y debe ajustarse a estrictas normas vigentes de los organismos regulatorios.

# Short and medium-term strategy

---

Optimizing the delivery of  $^{10}\text{B}$  compounds currently authorized for use in man (BPA, GB-10 and BSH) is an excellent short and medium term strategy

The knowledge gained will also be applicable in the future to potentially "more perfect"  $^{10}\text{B}$  compounds

Based on the knowledge of the properties of BPA, BSH and GB-10, it is possible to optimize their delivery and radiobiological efficacy

BPA $C_9H_{12}^{10}BNO_4$	BSH $Na_2^{10}B_{12}H_{11}SH$	GB-10 $Na_2^{10}B_{10}H_{10}$
Non-toxic		
Traverses the intact BBB	Traverses the disrupted BBB around brain tumors	
Uptake by active transport across the cell membrane. Uptake correlates with viability/cellularity/ metabolism	Largely diffusive	
Preferential tumor uptake ☺ (elevated rate of aa transport at tumor cell membrane)	No preferential tumor uptake ☹ (except for brain tumors)	
Heterogeneous tumor targeting ☹	Homogeneous tumor targeting ☺	
Low [B] in blood	High [B] in blood	
Cellular targeting regime	Vascular targeting regime: leakage through aberrant tumor blood vessels	
Tumor/Normal tissue ~ 2:1 - 3:1	Tumor/Normal tissue ~ 1:1	
[B] in tumor ~ 20-30 ppm Large spread in [B] values		

BPA, BSH AND GB-10 HAVE SHOWN THERAPEUTIC POTENTIAL

Our group began performing experimental BNCT studies in the hamster cheek pouch oral cancer model back in 1998, exploring what was then a new application of BNCT. Our studies preceded the first clinical trial of BNCT for head and neck cancer in 2004 in Japan.

Based on the very encouraging clinical studies of BNCT for head and neck cancer in Finland, Japan and, more recently, Taiwan, now our aim is to contribute to the knowledge of BNCT radiobiology to optimize its therapeutic efficacy

# Modelo experimental de cáncer oral en la bolsa de la mejilla del hamster

Bolsa normal evertida para su observación

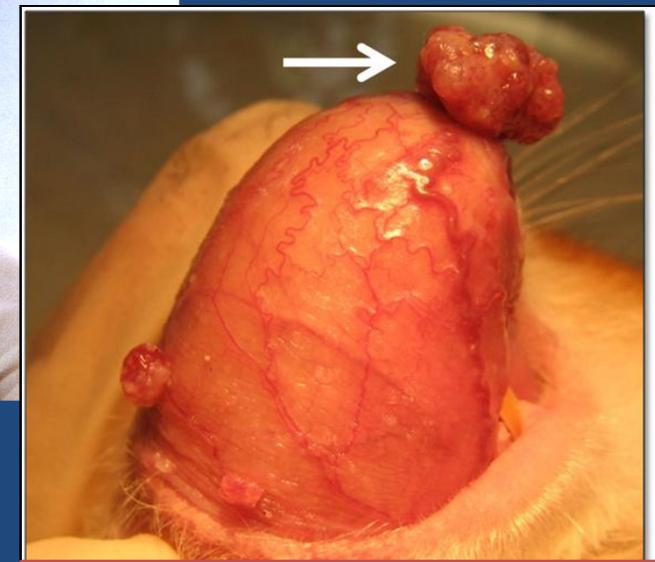


# Inducción tumoral con un carcinógeno químico (dimetilbenzantraceno-DMBA)

(topicación 2-3 veces por semana durante 12 semanas)



# Exophytic tumor (Squamous Cell Carcinoma) surrounded by precancerous tissue



Tumor volume: 252 mm<sup>3</sup>

## Ventajas del Modelo

- Es el modelo más aceptado de cáncer oral a nivel internacional
- Se inducen lesiones malignas y premalignas similares a las que se desarrollan en la mucosa oral humana
- Los tumores son inducidos por un proceso que imita el proceso de transformación maligna espontánea
- La bolsa de la mejilla puede ser evertida con facilidad para su irradiación local y seguimiento macroscópico

## Ventajas del Modelo para BNCT

- Permitió estudiar una nueva aplicación de BNCT
- Permite el estudio del tejido precanceroso circundante al tumor. Los modelos tumorales clásicos empleados en estudios de BNCT se basan en la implantación de células tumorales en tejido sano.
- Permite el estudio de la respuesta de la piel y los tejidos orales que serían limitantes de la dosis en pacientes con tumores de cerebro y/o cabeza y cuello.
- Permite evaluar el potencial terapéutico de nuevos compuestos borados y analizar nuevas estrategias para optimizar el targeting de boro con compuestos borados aprobados para su uso en humanos.

# Estudios de biodistribución con compuestos borados. Se hacen para:

- Determinar el contenido absoluto de boro en tumor y en tejidos sanos para realizar cálculos dosimétricos
- Identificar los protocolos de administración de compuestos borados que se justifica evaluar en estudios de BNCT *in vivo*
- Determinar el tiempo óptimo post-administración para realizar la irradiación con neutrones (para maximizar el contenido absoluto de boro en tumor y la relación T/TN y T/S)
- Obtener información sobre la homogeneidad del targeting de boro
- Evaluar potencial toxicidad a corto plazo del compuesto

# Estudios de Biodistribución

## Modelo de cancer oral en la bolsa de la mejilla del hamster

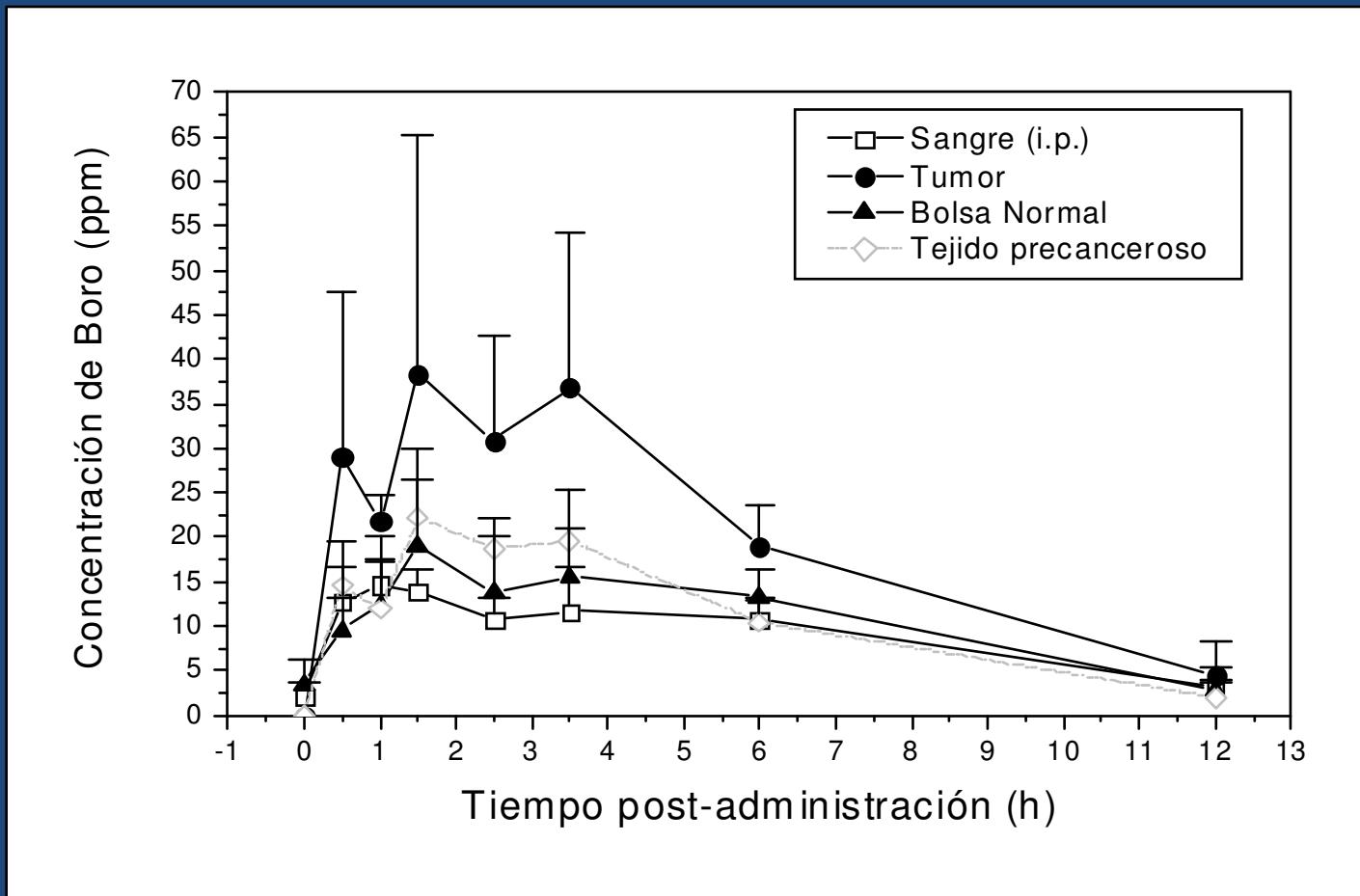
Cancer Research, Kreimann et al., 2001a

Archives of Oral Biology, Kreimann et al., 2003

Archives of Oral Biology, Heber et al., 2004

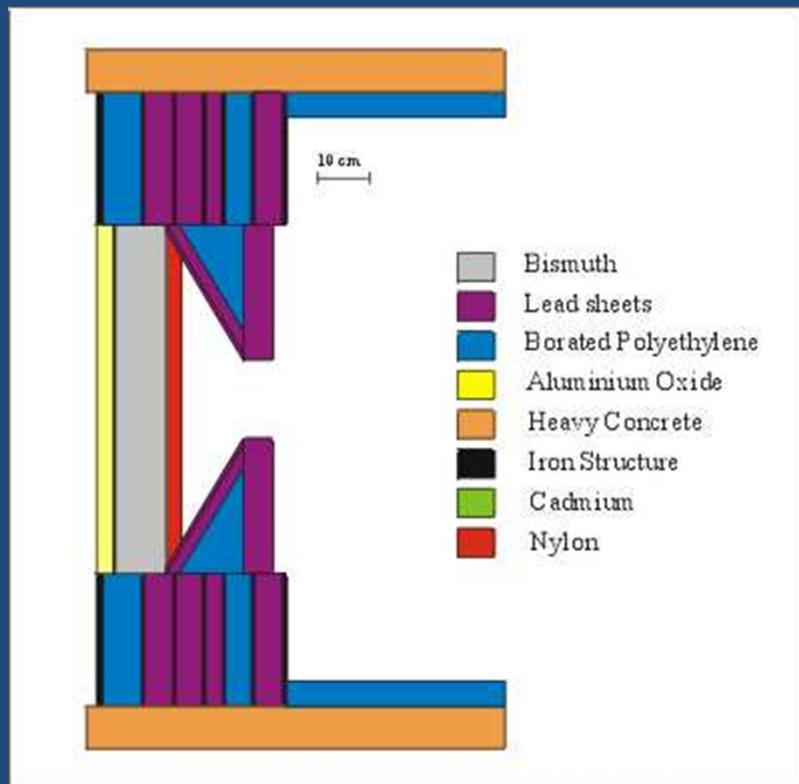
Archives of Oral Biology, Heber et al., 2006

Radiation and Environmental Biophysics, Heber et al., 2012



Concentración de Boro ( $\mu\text{gB/g}$ ) en función del tiempo post-administración de una dosis de BPA de 300 mg/kg de p.c.. Cada punto representa la media y D.S. de 5-12 muestras. Mediciones por Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivo (ICP-OES).

# In vivo BNCT at RA-6 thermalized epithermal beam



## BPA-BNCT

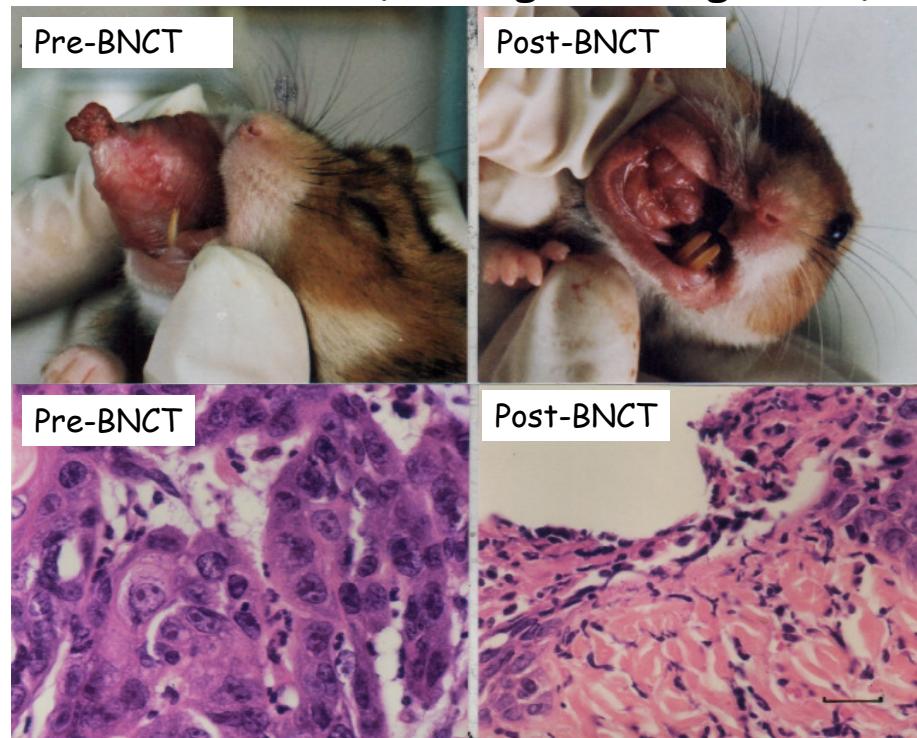
78% complete remission + 13% partial remission.

Tumor control: 91% ( $5.2 \pm 2.3$  Gy)

Dose-limiting, reversible mucositis in precancerous tissue

No complete remissions in large tumors:  $>100\text{mm}^3$

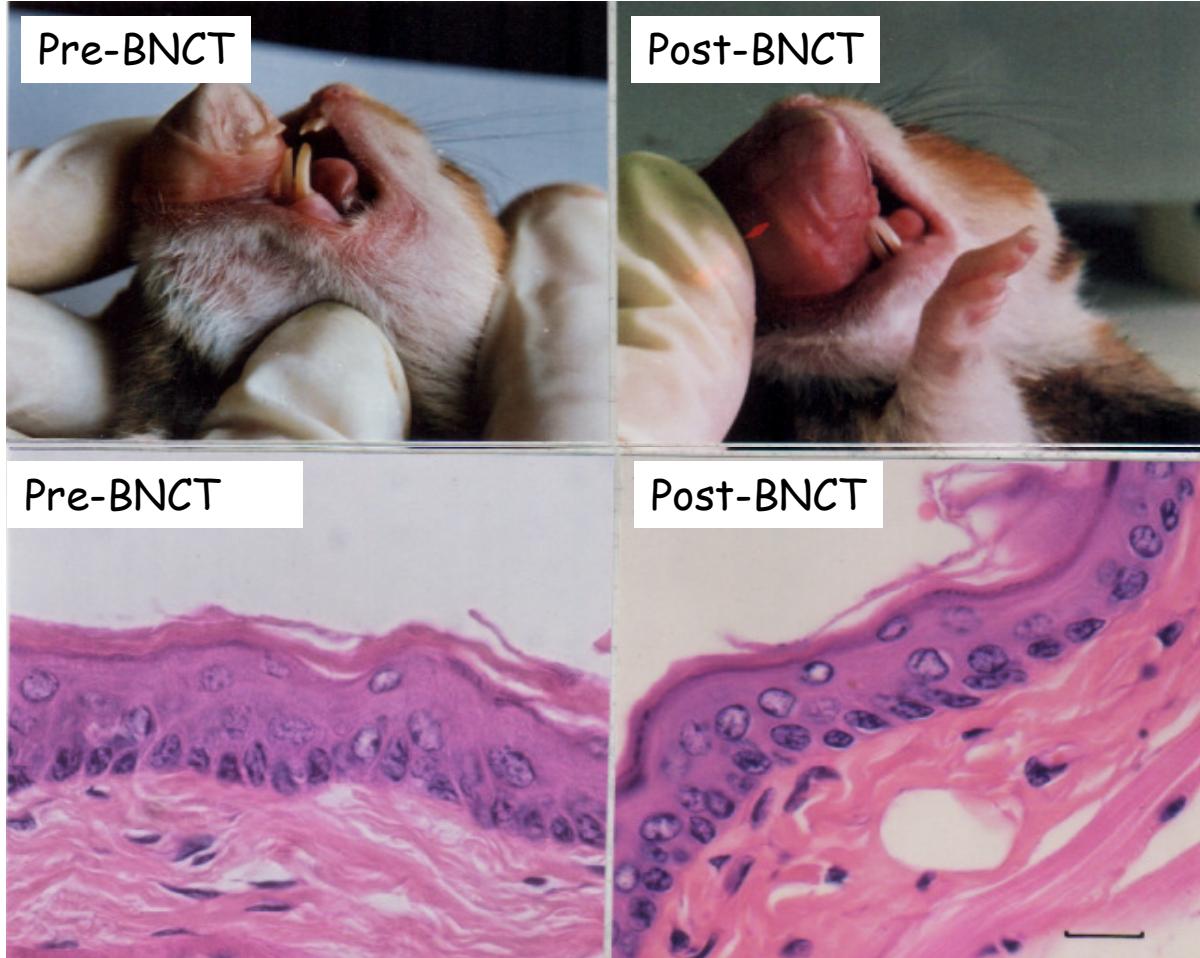
Tumor pre-BPA-BNCT and 2 weeks post-BPA-BNCT (300mg BPA/kg b.w.)



Kreimann et al., Cancer Research, 2001

Kreimann et al., Cancer Research (Advances in Brief), 2001

## Normal tissue pre-BNCT and 2 weeks post-BNCT (300mg BPA/ kg b.w.)

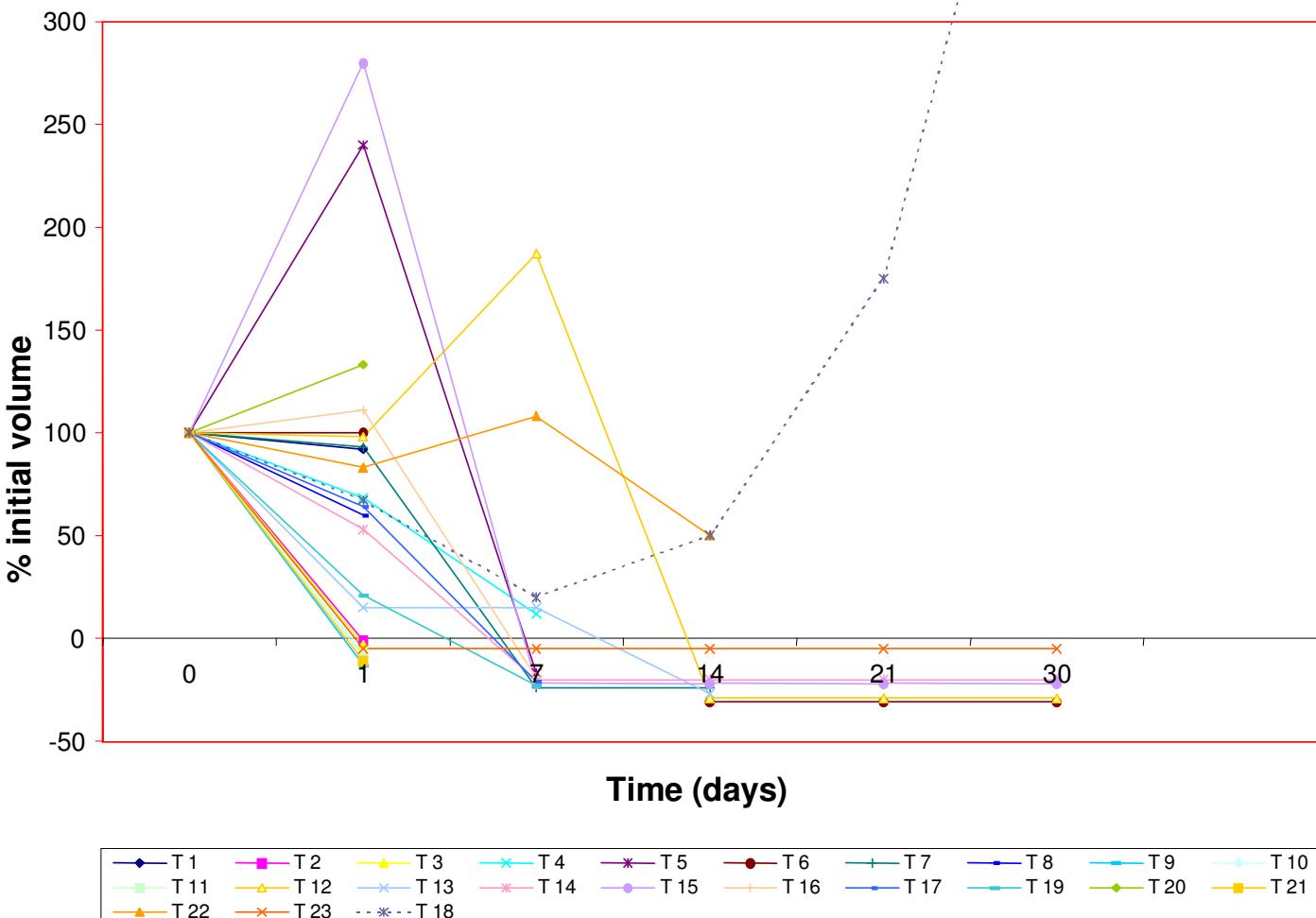


# Tumor response to BPA-BNCT (300 mg BPA/kg)

Complete remission: 78% (18/23)

Partial remission: 13% (3/23)

Progression: 1 tumor



# STRATEGY to optimize the delivery of the $^{10}\text{B}$ compounds :

The combined administration of different boron compounds with different properties and complementary uptake mechanisms.

This would enhance the therapeutic advantage of BNCT by:

- combining tumor control mechanisms
- targeting different tumor cell populations
- overcoming potential toxicity of higher doses of each of the compounds if given alone

Combinations of agents may be superior to any single agent

## [B] in ppm (Mean $\pm$ S.D.)

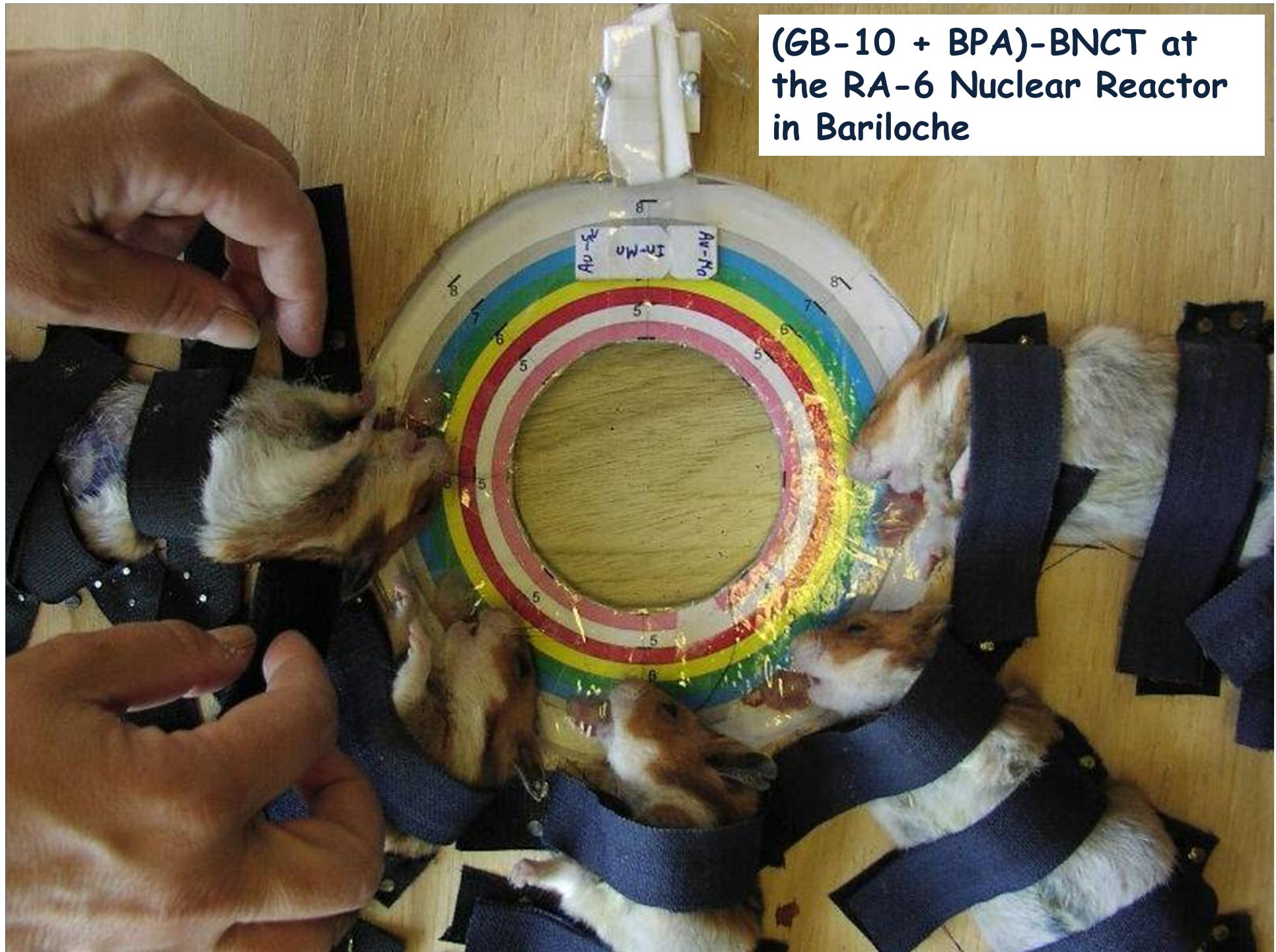
Tissue/Protocol	BPA (15.5 mg B/kg)	GB-10 (50 mg B/kg)	GB-10 (34.5 mg B/kg) + BPA (31.5 mg B/kg)
Tumor	30 $\pm$ 14	18 $\pm$ 7	63 $\pm$ 21
Precancerous tissue	17 $\pm$ 4	20 $\pm$ 15	41 $\pm$ 14
Normal pouch tissue	14 $\pm$ 4	16 $\pm$ 7	38 $\pm$ 18
Blood	9 $\pm$ 4	22 $\pm$ 10	30 $\pm$ 14
Tumor/Normal tissue	2 $\pm$ 1	1.3 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.8
Tumor/Blood	4 $\pm$ 2	0.9 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 0.6

**Advantages of the combined administration protocol in terms of boron targeting:**

- High absolute boron content in tumor
  - Selective tumor uptake
  - (GB-10 + BPA) protocol delivered boron to tumor 3.3-fold more homogeneously than the BPA protocol and 1.8-fold more homogeneously than the GB-10 protocol
- (GB-10 protocol delivered boron to tumor 1.8-fold more homogeneously than the BPA protocol)

Heber et al., 2006

(GB-10 + BPA)-BNCT at  
the RA-6 Nuclear Reactor  
in Bariloche



## Total absorbed doses (Gy)

Tissue/Protocol	BPA-BNCT	GB-10-BNCT	(GB-10 + BPA)-BNCT
Tumor	$5.2 \pm 0.4$	$8.0 \pm 0.4$	$8.5 \pm 0.4$
Precancerous tissue	$4.3 \pm 0.3$	$8.0 \pm 0.4$	$5.3 \pm 0.2$
Normal pouch tissue	$3.5 \pm 0.2$	$7.0 \pm 0.3$	$5.3 \pm 0.2$

It was not possible to escalate the dose in the BPA-BNCT protocol due to toxicity (mucositis) in dose-limiting precancerous tissue

## Tumor response

Tumors	Partial resp. %	Compl. resp. %	Overall resp. %
<b>BPA-BNCT</b>			
Total	13	78	91
Large	100	0	100
Medium	7	79	86
Small	0	100	100
Reversible, dose-limiting mucositis in precancerous tissue			
<b>GB-10-BNCT</b>			
Total	30	41	70
Large	33	33	67
Medium	38	25	63
Small	28	5	70
Reversible, slight mucositis en precancerous tissue			
<b>(GB-10 + BPA)-BNCT</b>			
Total	27	66	93
Large	50	25	75
Medium	67	25	92
Small	13	82	95
Reversible, slight-moderate mucositis in precancerous tissue			

No normal tissue toxicity with any of the protocols

Trivillin et al., Rad Res 2006

Although GB-10 is not selectively taken up by tumor, GB-10-BNCT induced 70% overall tumor response with no normal tissue toxicity and only slight toxicity (mucositis) in dose-limiting precancerous tissue

Pre-GB-10-BNCT

Cancerized pouch

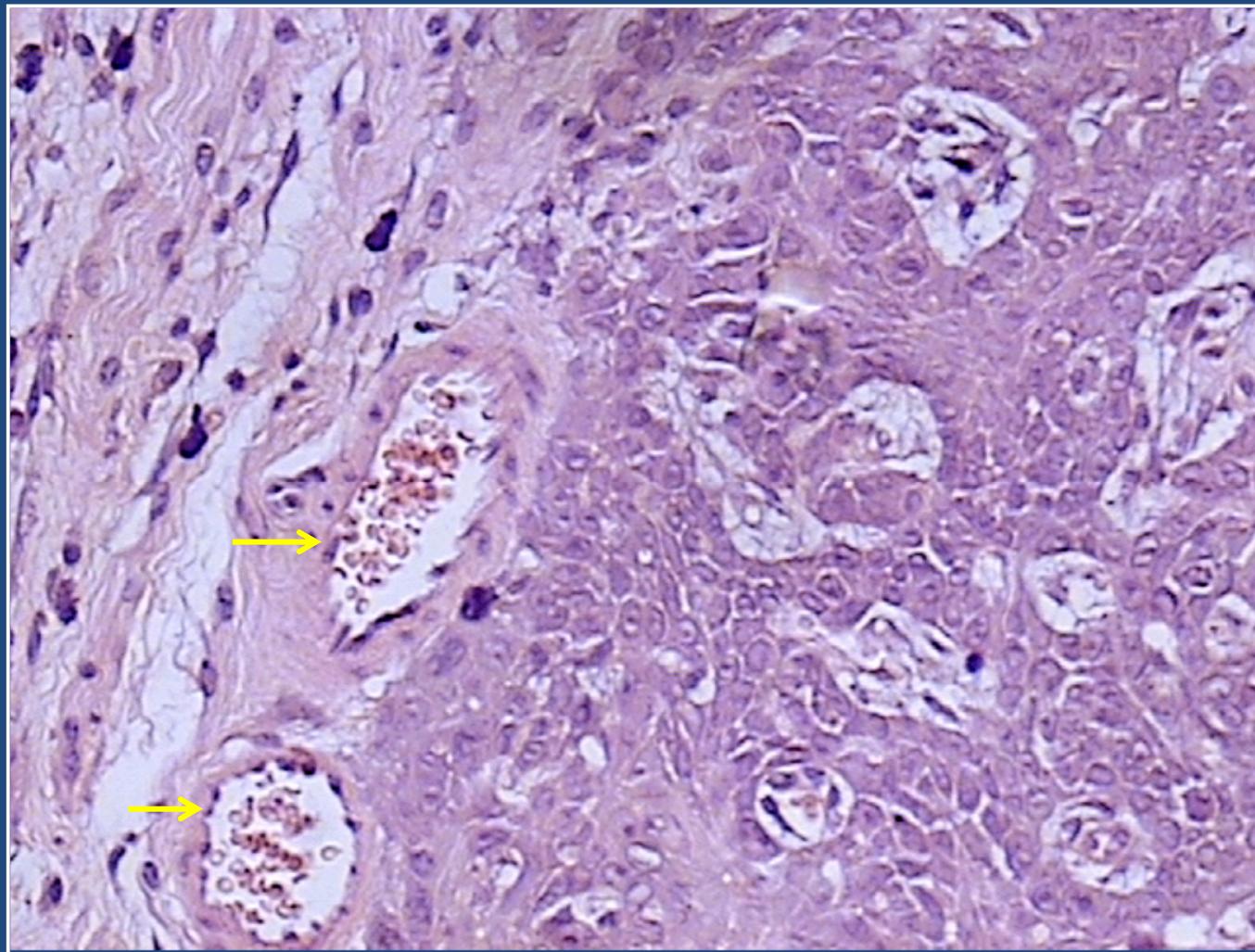


7 days post-GB-10-BNCT

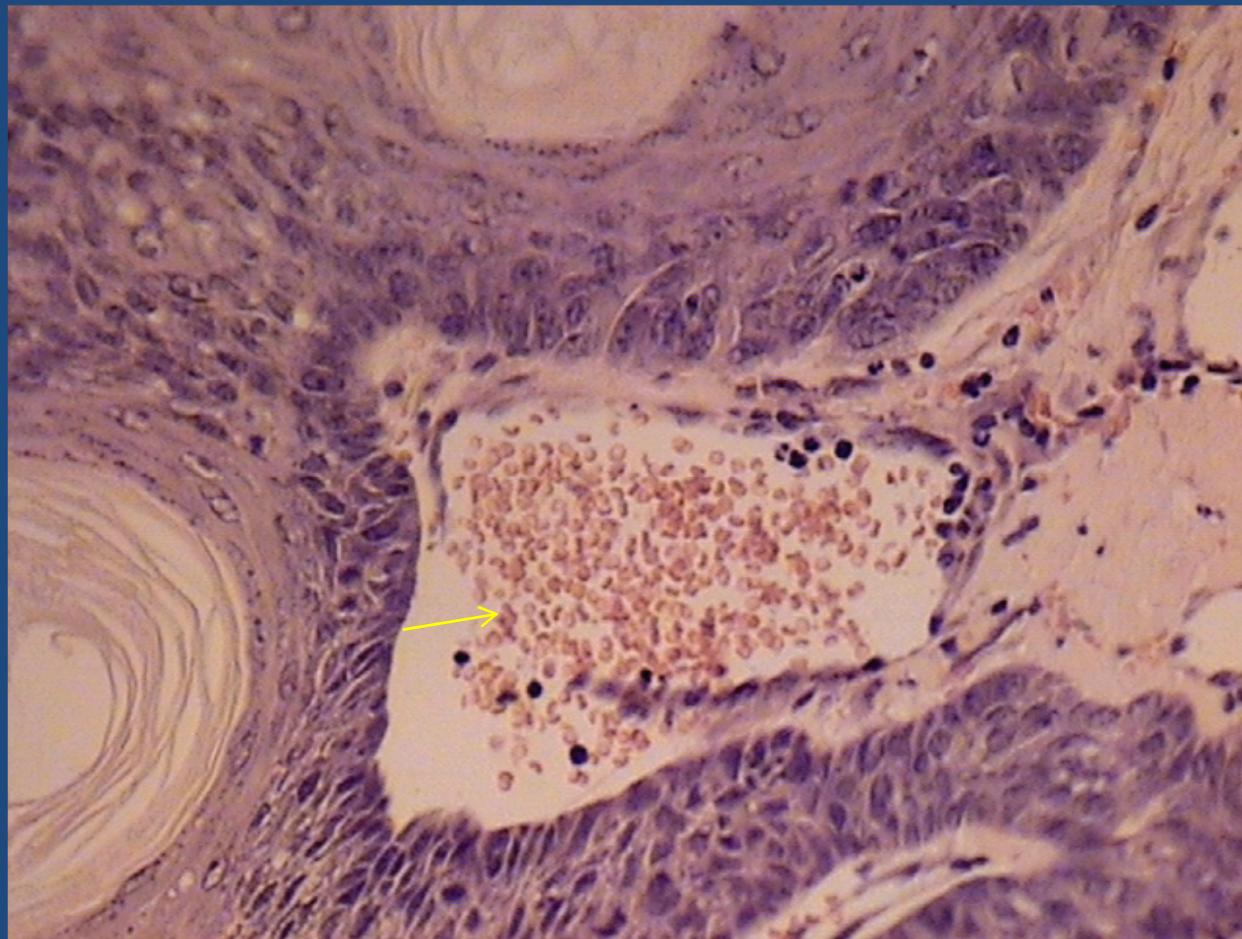
Normal pouch



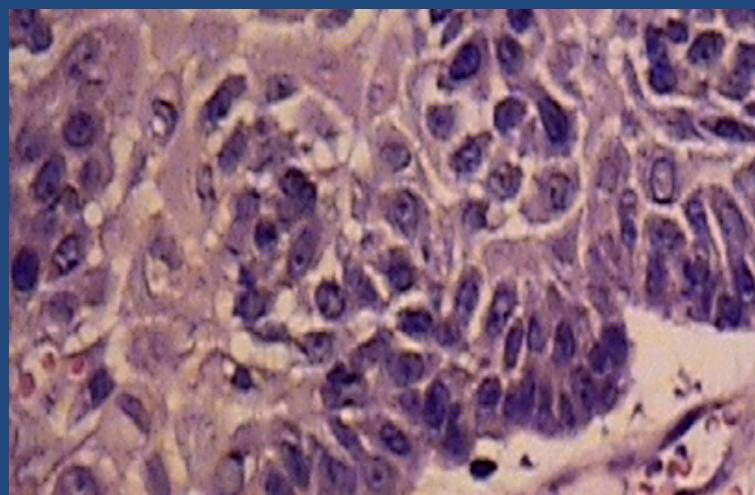
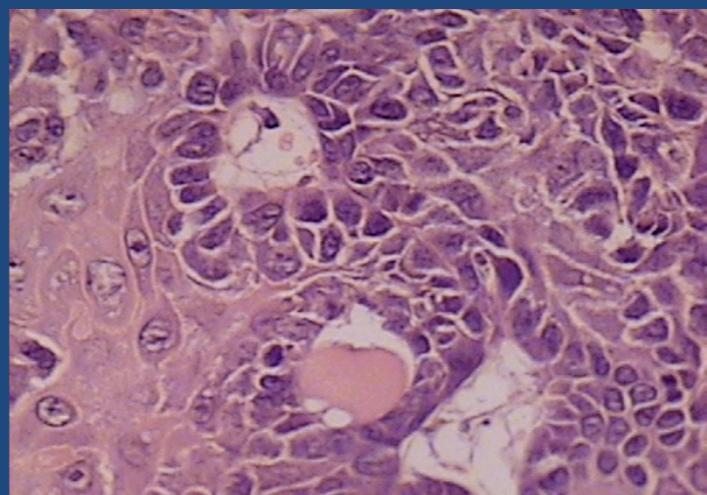
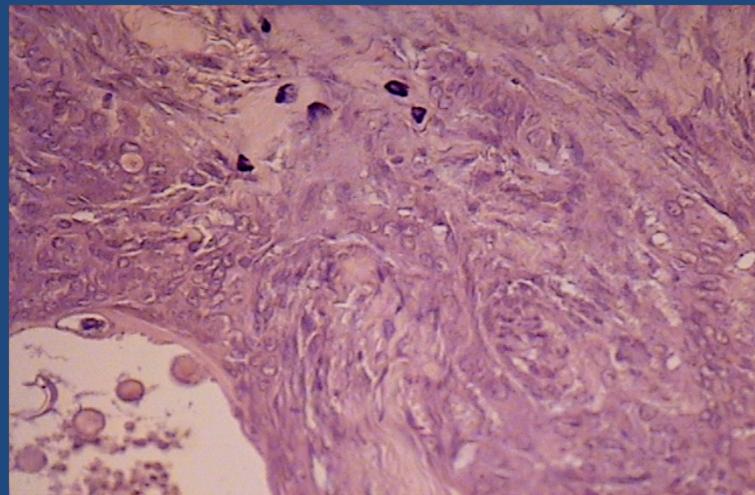
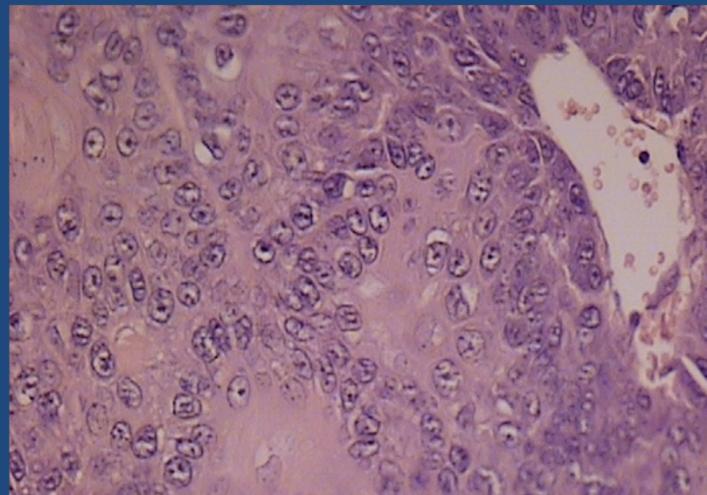
## Untreated tumor



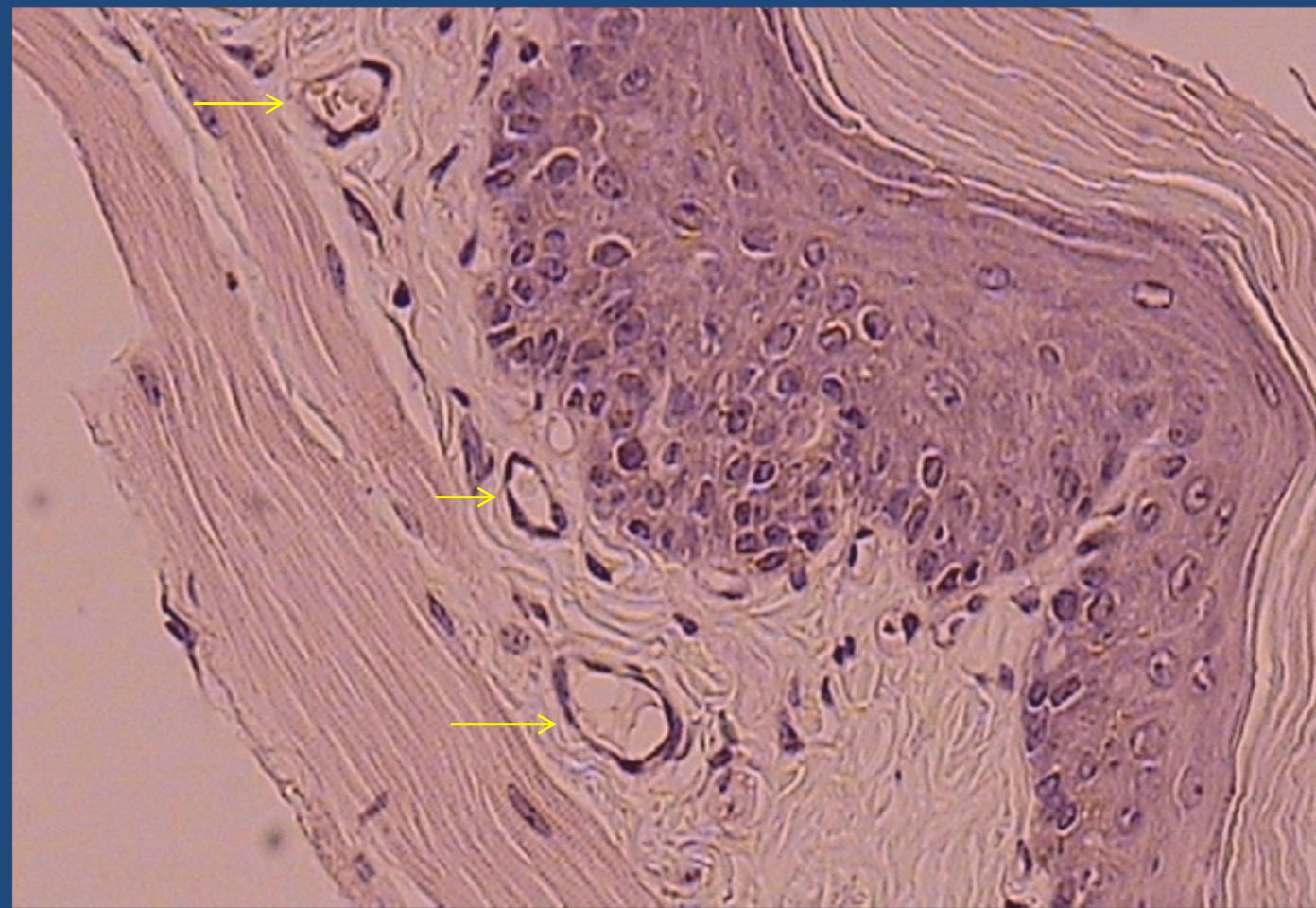
## Tumor 30 days post-GB-10-BNCT



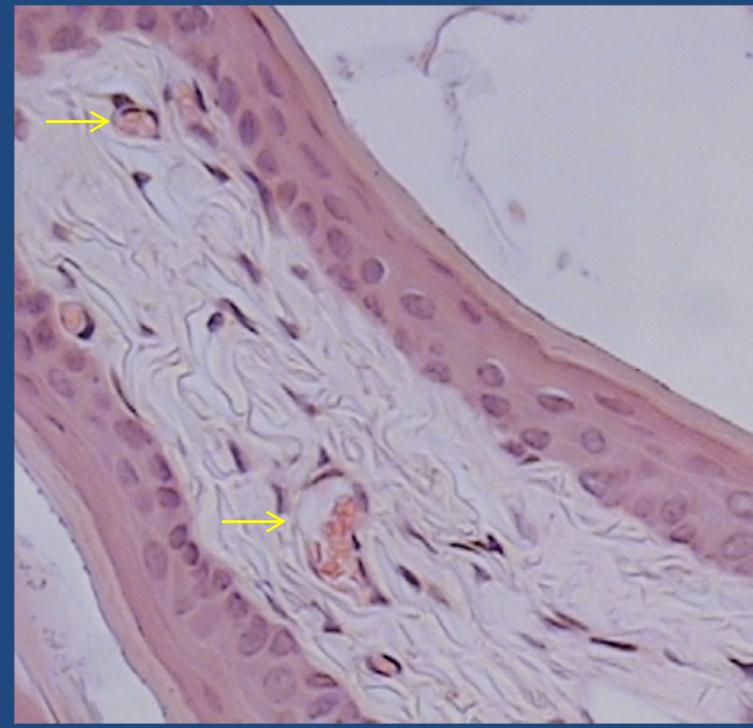
## Tumor 21-30 days post-GB-10-BNCT



## Precancerous tissue 30 days post-GB-10-BNCT



## Normal tissue 30 days post-GB-10-BNCT



# A new paradigm in BNCT radiobiology

---

Due to its lack of selectivity, a priori GB-10 would be an unattractive B compound to test alone for BNCT in organs not protected by the BBB.

Almost surprisingly, GB-10-BNCT exerted significant tumor control but failed to induce radioinduced alterations in precancerous and normal tissue (no reversible mucositis in precancerous tissue as seen with BPA-BNCT).

THIS EFFECT WOULD BE DUE TO A DIFFERENTIAL ACTION ON TUMOR BLOOD VESSELS. TUMOR CONTROL WOULD BE PARTIALLY THE RESULT OF IMPAIRED OXYGENATION.

Tumor blood vessels would be more sensitive to BNCT due to their altered structure and function.

SELECTIVE TUMOR TARGETING OF GB-10-BNCT WOULD NOT OCCUR VIA SELECTIVE UPTAKE of GB-10 BUT VIA A DIFFERENTIAL EFFECT ON TUMOR BLOOD VESSELS

## The importance of *in vivo* BNCT radiobiological studies...

---

*In vivo* BNCT radiobiological studies are pivotal...biodistribution studies can be misleading...

A boron compound that seems an excellent candidate in biodistribution studies (good selectivity, good absolute boron uptake...) may fail miserably in tumor control studies due to inadequate microlocalization.

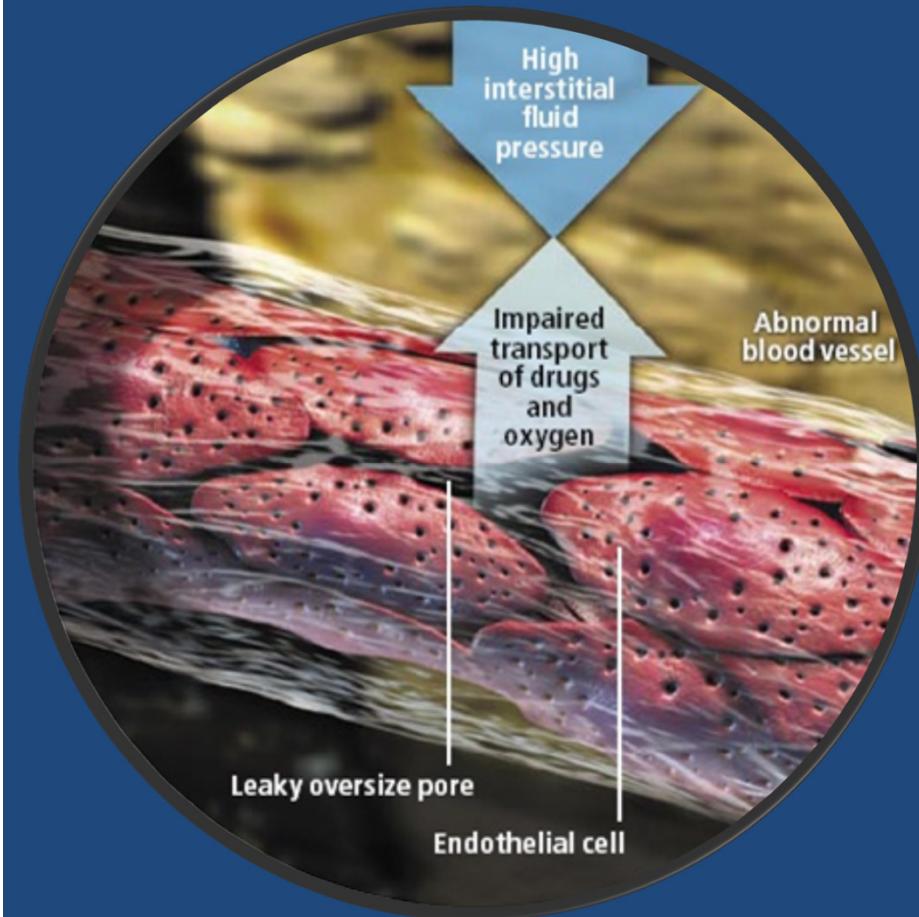
Conversely, an apparently disappointing compound in biodistribution studies (such as GB-10 in our case) may be surprisingly effective in actual BNCT studies.

*In our experience...the guidelines to establish the potential therapeutic value of an administration protocol (and determine whether radiobiological evaluation in *in vivo* BNCT studies is warranted):*

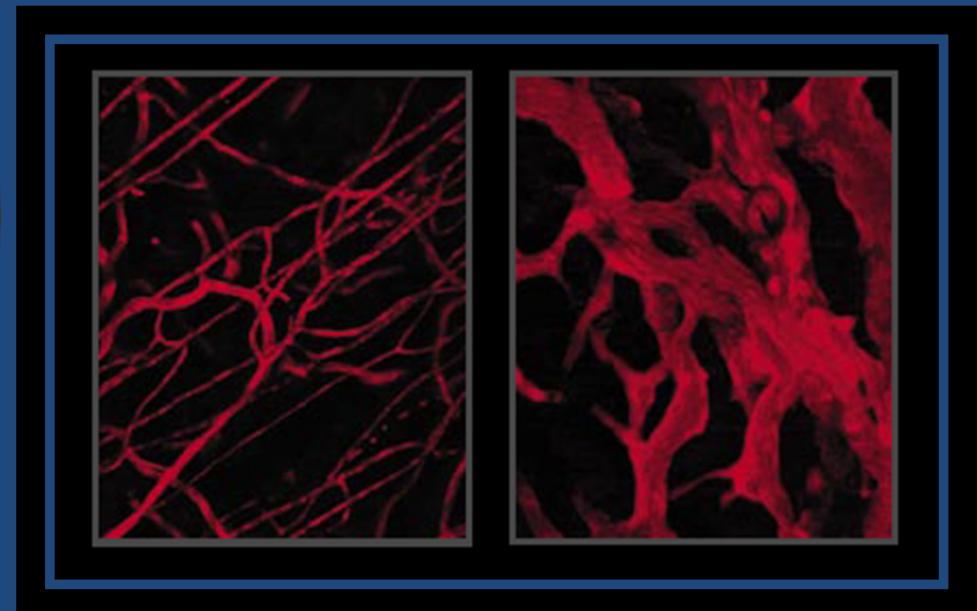
- No manifest toxicity
- Absolute boron concentration in tumor > 20 ppm
- Boron concentration ratio tumor/normal tissue  $\geq 1$
- Boron concentration ratio tumor/blood  $\geq 1$

*However...these guidelines may not apply to all boron compounds*

# Another strategy to improve boron targeting... Tumor blood vessel normalization prior to the administration of BPA (Molinari et al., Rad Res 2012)



Aberrant tumor blood vessels  
impair drug delivery

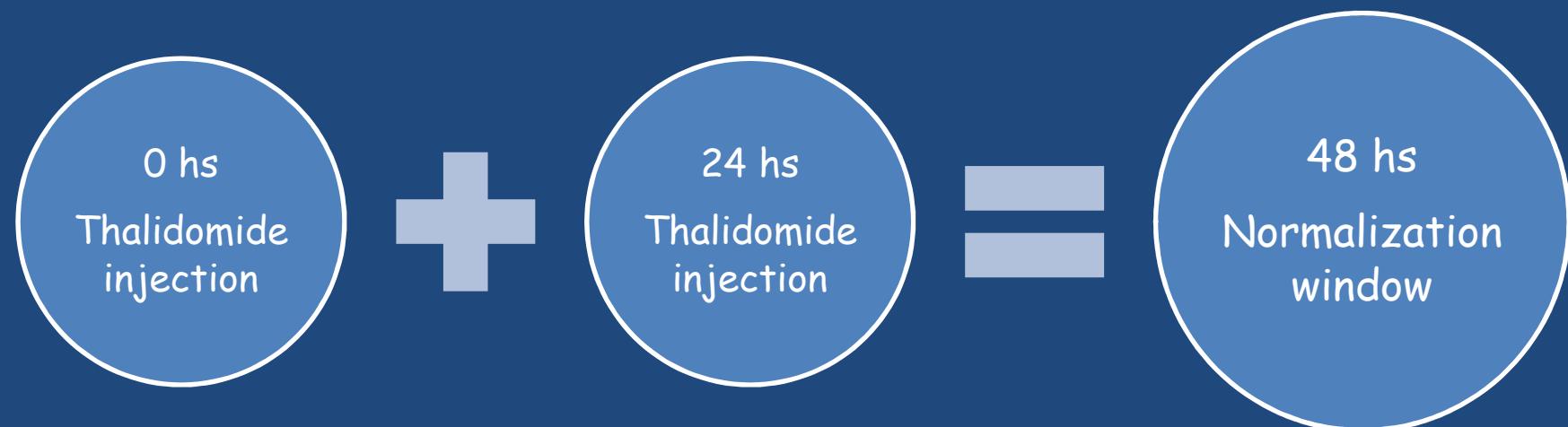


Normal vessels

Tumor  
vessels

# Normalization Protocol in the Hamster Cheek Pouch Oral Cancer Model:

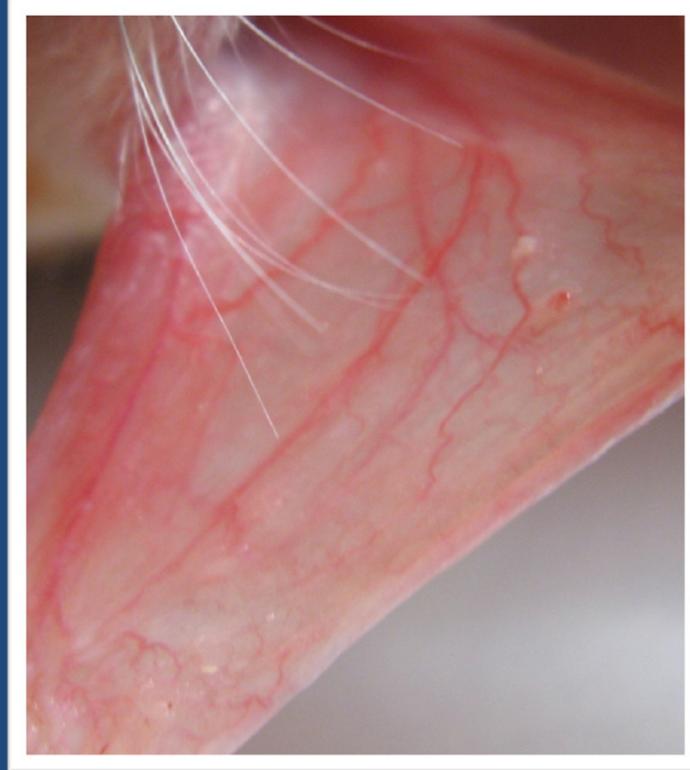
200 mg Thalidomide/kg b. w. (112 mg Thalidomide/ml DMSO)



Thalidomide is a generous gift of Triquim S.A.



Cancerized Pouch before  
Thalidomide treatment



Cancerized Pouch 48 hs  
after the first Thalidomide  
dose

# Boron Biodistribution Studies

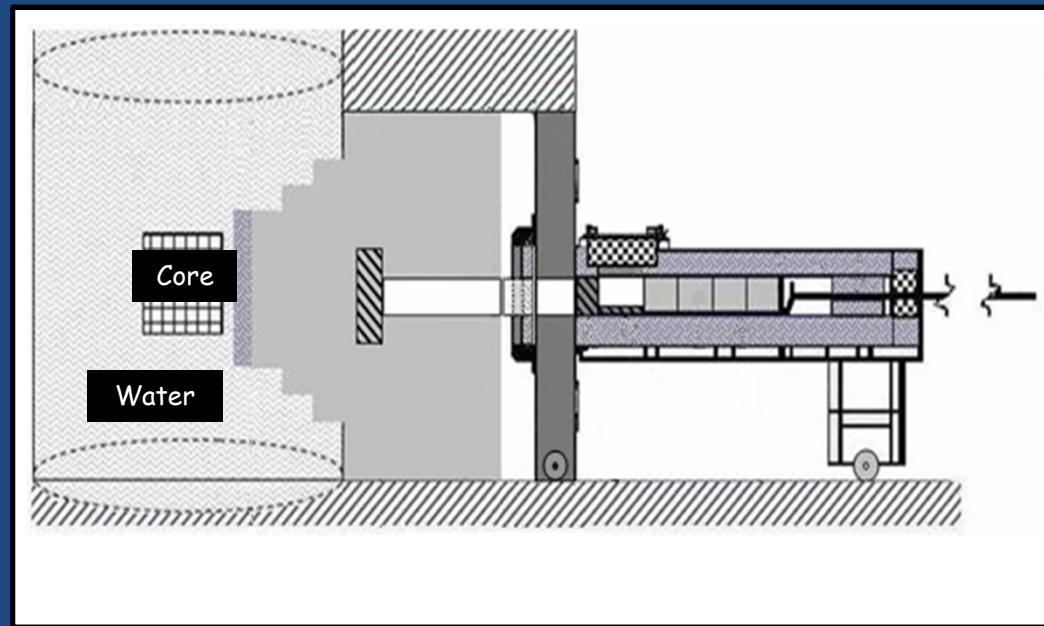
Boron concentration (mean  $\pm$  SD) in ppm

Tissue	Protocol	BPA*
Tumor	Thalidomide +BPA	20 $\pm$ 8
Tumor	BPA	25 $\pm$ 15
Precancerous tissue	Thalidomide + BPA	14 $\pm$ 3
Precancerous tissue	BPA	20 $\pm$ 6
Normal Pouch tissue	Thalidomide +BPA	15 $\pm$ 4
Normal Pouch tissue	BPA	14 $\pm$ 5

\* 3 h after BPA administration (15.5 mg  $^{10}\text{B}$  /kg bw bolus ip)

# Thermal Neutron Source at the RA-3 Research Reactor Facility in Buenos Aires

Irradiations were performed at a neutron source constructed for use in BNCT biomedical applications by the National Atomic Energy Commission of Argentina at the RA-3 research reactor facility located in Ezeiza, Buenos Aires



A tunnel penetrating the graphite structure of the thermal column enables the insertion of samples into a near-isotropic neutron field while the reactor is in normal operation.

We constructed a shield made of lithium carbonate, enriched in  $^{6}\text{Li}$ , to protect the body of the animal from the thermal neutron flux



# In vivo BNCT

Thalidomide + BPA-BNCT and BPA-BNCT at the same BPA dose and the same neutron fluence

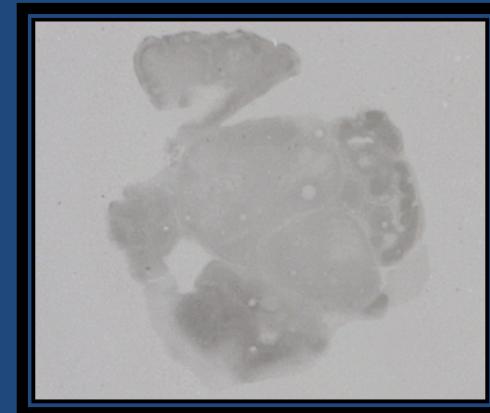
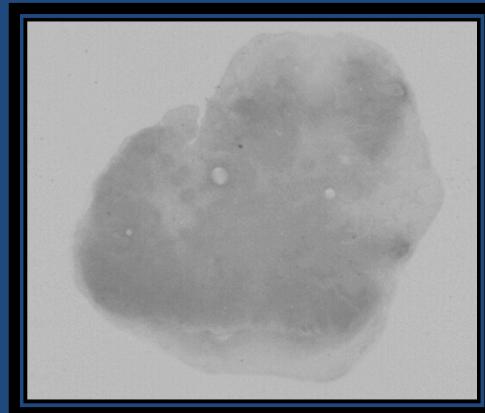
Tumors	n	Complete Response (% ± SE)	Partial Response (% ± SE)	Partial Response ≤ 50% initial volume (% ± SE)	No response (% ± SE)	Overall Tumor Response (Complete + partial) (% ± SE)
<b>THALIDOMIDE + BPA-BNCT</b>						
Total	116	56±5	28±4	20±4	16±3	<b>84±3</b>
Large > 100 mm <sup>3</sup>	7	14±13	57±19	43±19	29±17	<b>71±17</b>
Medium 10-100 mm <sup>3</sup>	32	25±8	59±9	41±9	16±6	<b>84±6</b>
Small < 10 mm <sup>3</sup>	77	73±5	13±4	9±3	14±4	<b>86±4</b>
<b>BPA-BNCT</b>						
Total	100	43±5	24±4	13±3	33±5	<b>67±5</b>
Large > 100 mm <sup>3</sup>	4	0	50±25	25±22	50±25	<b>50±25</b>
Medium 10-100 mm <sup>3</sup>	17	24±10	47±12	35±12	29±11	<b>71±11</b>
Small < 10 mm <sup>3</sup>	79	49±6	18±4	8±3	33±5	<b>67±5</b>

# Beam Only

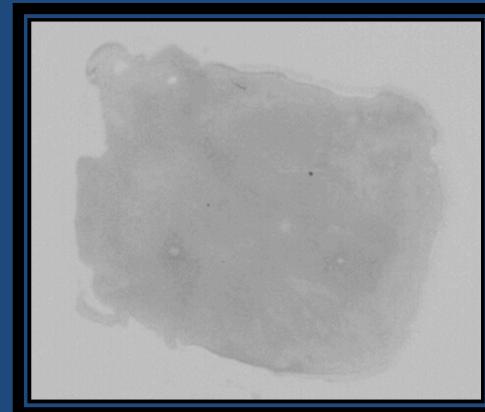
Tumors	n	Complete Response (% ± SE)	Partial Response (% ± SE)	Partial Response ≤ 50% initial volume (% ± SE)	No response (% ± SE)	Overall Tumor Response (Complete + partial) (% ± SE)
<b>THALIDOMIDE + BEAM ONLY</b>						
Total	54	0	15±5	4±3	85±5	15±5
Large > 100 mm <sup>3</sup>	2	0	0	0	100±0	0
Medium 10-100 mm <sup>3</sup>	9	0	22±14	0	78±14	22±14
Small < 10 mm <sup>3</sup>	43	0	14±5	5±3	86±5	14±5
<b>BEAM ONLY</b>						
Total	50	0	18±5	6±3	82±5	18±5
Large > 100 mm <sup>3</sup>	2	0	0	0	100±0	0
Medium 10-100 mm <sup>3</sup>	10	0	20±13	0	80±13	20±13
Small < 10 mm <sup>3</sup>	38	0	18±6	8±4	82±6	18±6

Pre-treatment with Thalidomide to "normalize" tumor blood vessels prior to administration of BPA would enhance the therapeutic efficacy of BNCT and reduce mucositis in precancerous tissue

Tumor  
BPA



Tumor  
Normalization  
+ BPA



Neutron Autoradiography

In collaboration with Bortolussi, Altieri et al.

# Preclinical scenario: BNCT for the treatment of spontaneous SCC in felines

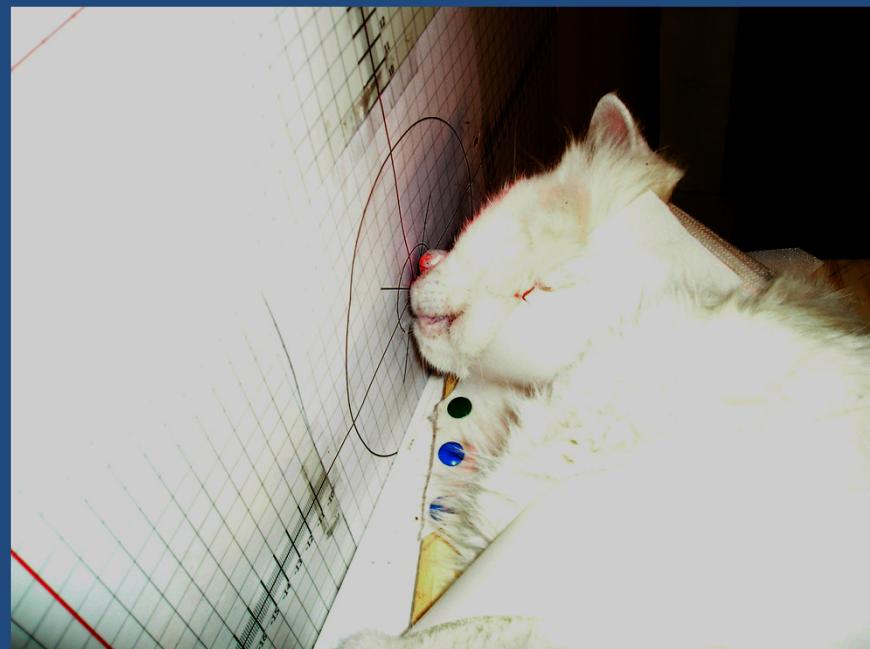
(tumors of the same type that we induce experimentally in the hamster cheek pouch)

- SCC is a common tumor involving the skin and accounting for 15% of cutaneous tumors in cats.
- SCCs are usually found in unpigmented or lightly pigmented skin.
- SCCs may be locally very invasive but metastasize only rarely.
- Tumors of the higher stages respond poorly to all therapeutic modalities.



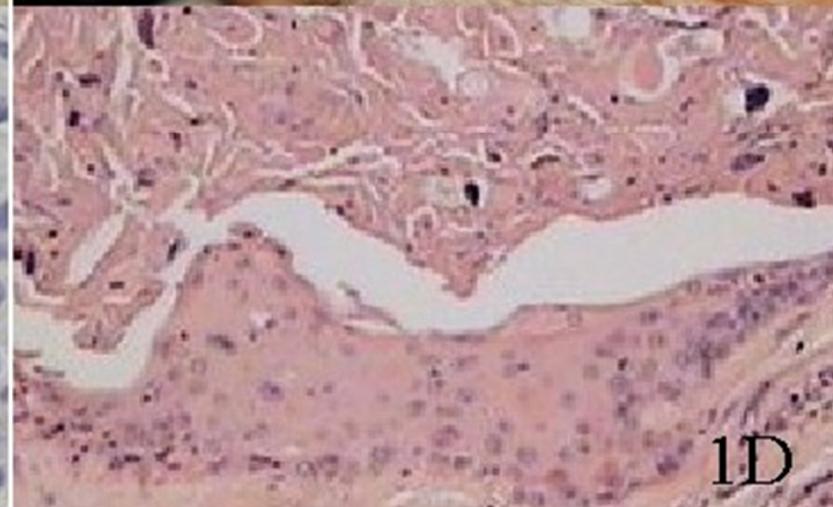
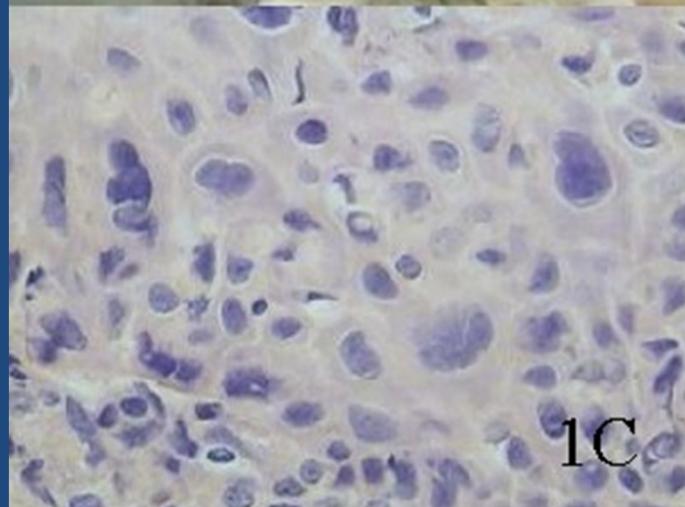
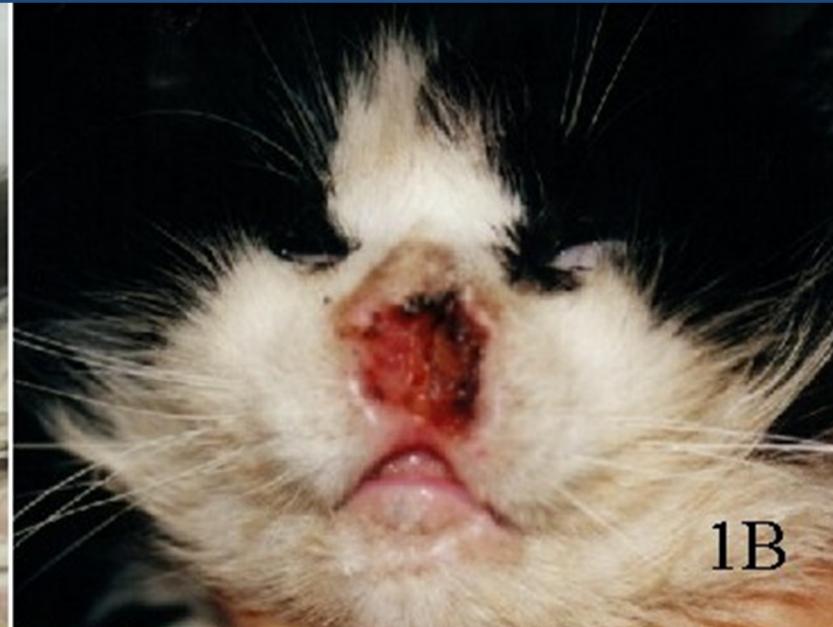
Feasibility study (low-dose) in terminal felines  
at RA-1 and higher dose study at RA-6

# Felines positioned at the RA-6 beam port



## BPA-BNCT of Spontaneous Head and Neck Cancer in Feline Patients

(Rao et al., ARI 2004; Trivillin et al., REB 2008)



# Estudio pre-clínico de BNCT para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello en perros con tumores espontáneos sin opción terapéutica

En orden alfabético...

Boggio E

Brollo F

Cantarelli MA

Garabalino MA

Gonzalez SJ

Heber EM

Longhino J

Monti Hughes A

Olivera MS

Provenzano L

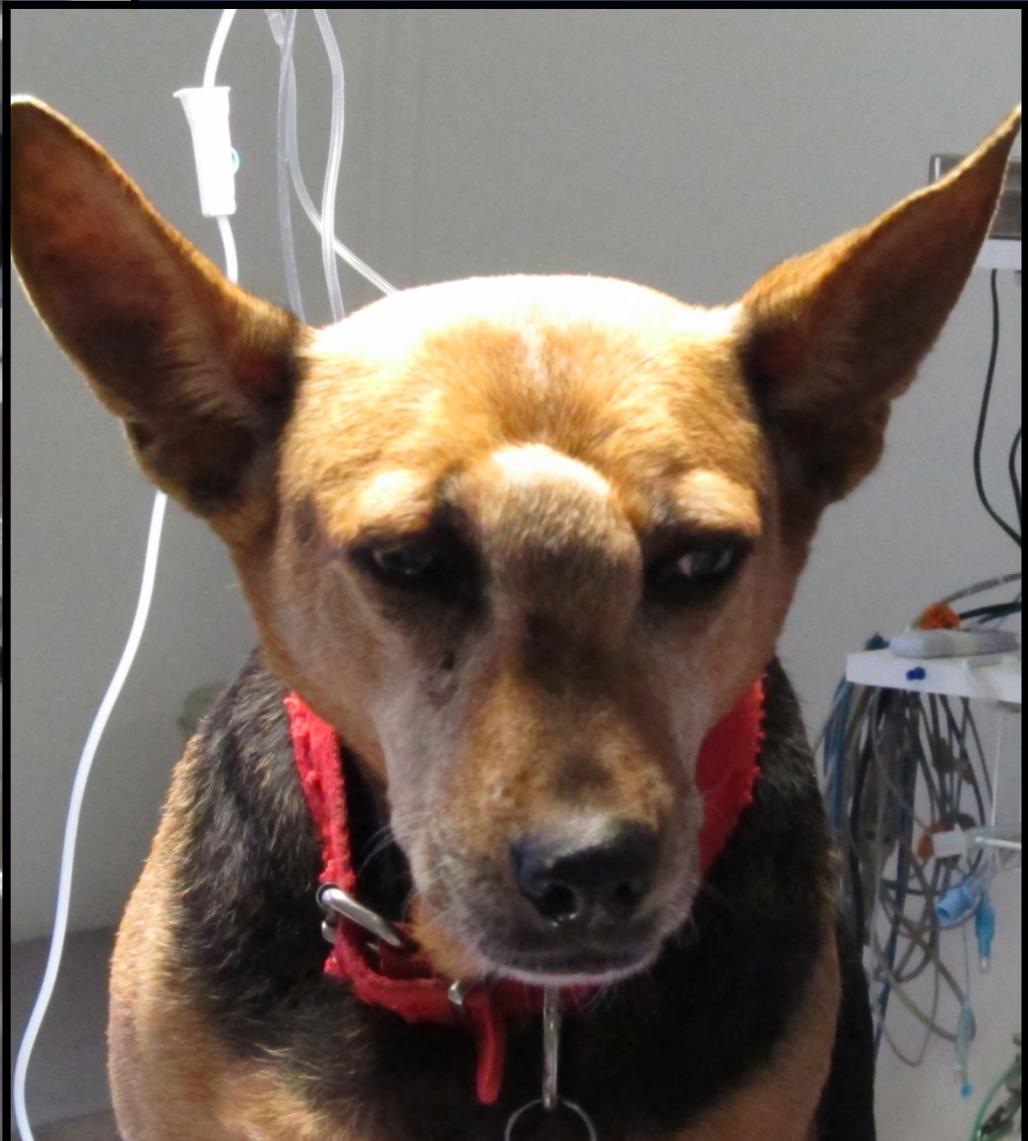
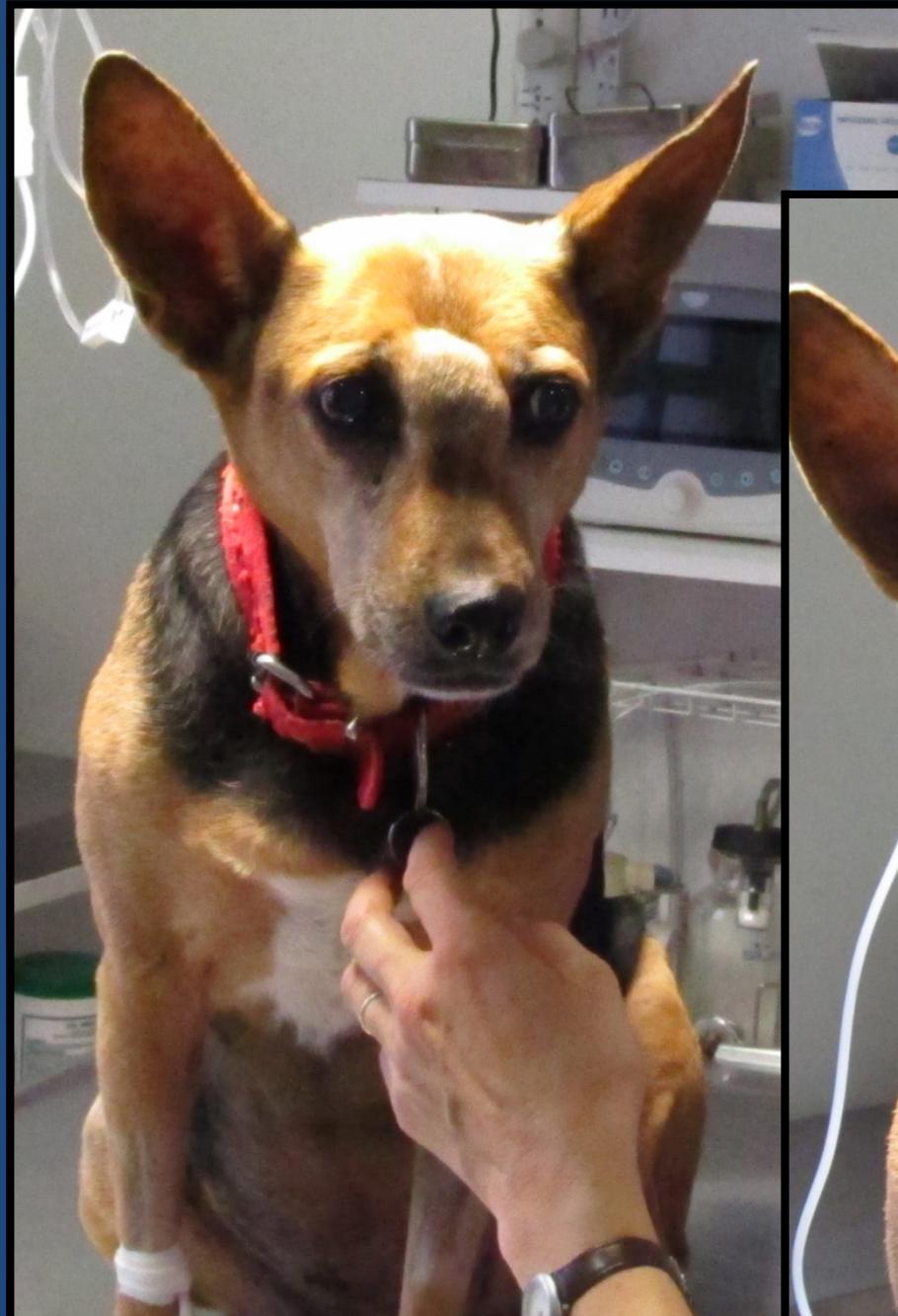
Rao M

Santa Cruz GA

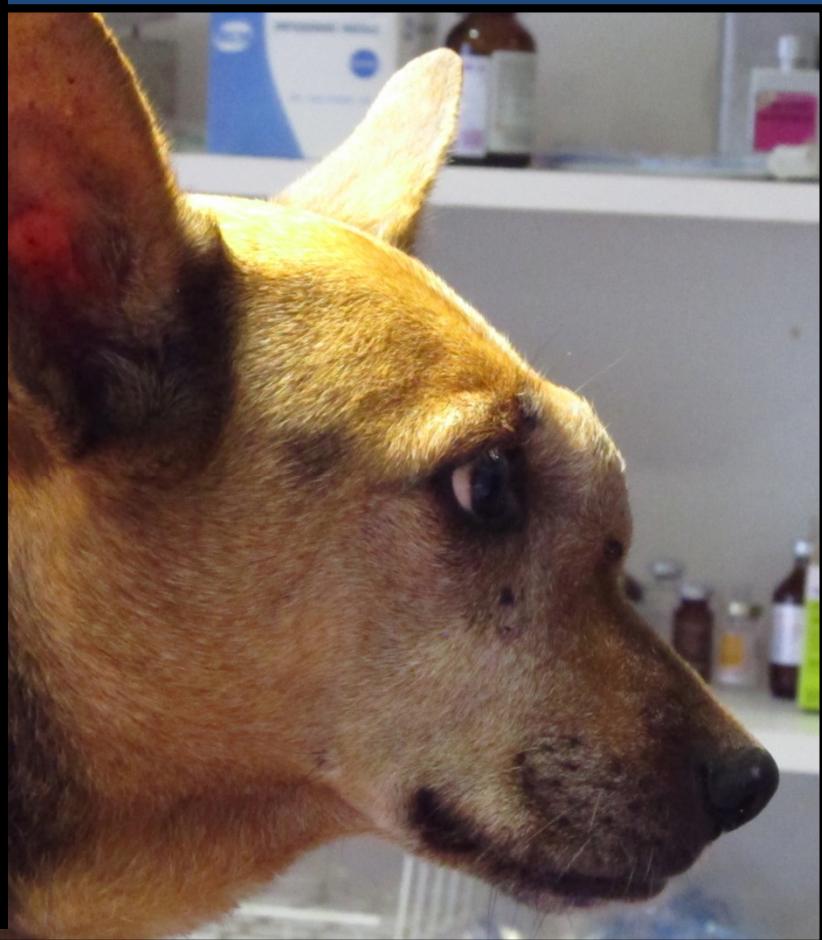
Schwint AE

Trivillin VA

30 de Junio 2015  
Paciente: Lucy



30 de Junio 2015  
Paciente: Lucy



**Diagnóstico histopatológico (4 de junio de 2015):** carcinoma de células escamosas bien diferenciado de la cavidad nasal y senos paranasales, de gran volumen (en la mayoría de los casos el tratamiento es paliativo y no curativo y el pronóstico es malo, sobre todo cuando el diagnóstico es tardío).

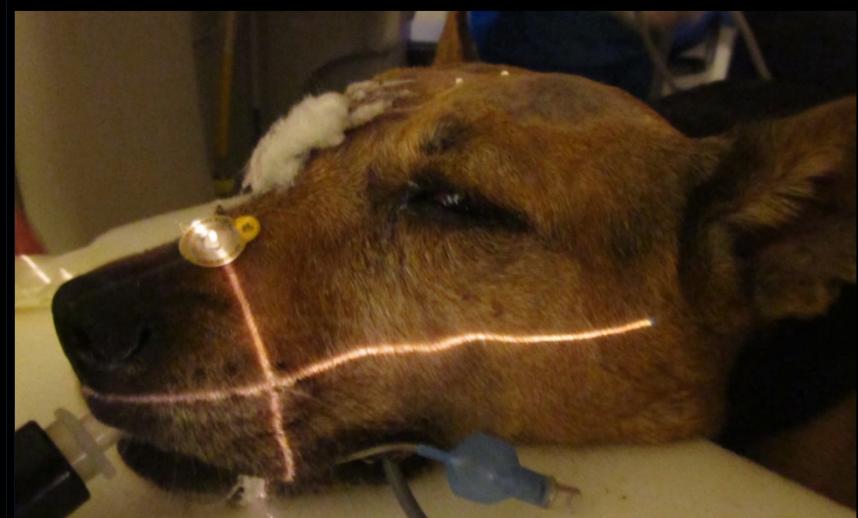
**Síntomas clínicos:** descarga nasal, hemorragias, tos, dificultad para respirar, desgano, disminución del apetito. La Dra. Rao informa que las Rx disponibles no indican la existencia de metástasis.

**Tratamiento:** imposibilidad de realizar una resección quirúrgica. Quimioterapia: carboplatino, 2 aplicaciones con 3 semanas de intervalo. Los análisis bioquímicos mostraron que no estaba en condiciones de recibir la 3era. aplicación. Sin mejora 6 semanas post- primera aplicación. Derivación a la Dra. Rao.

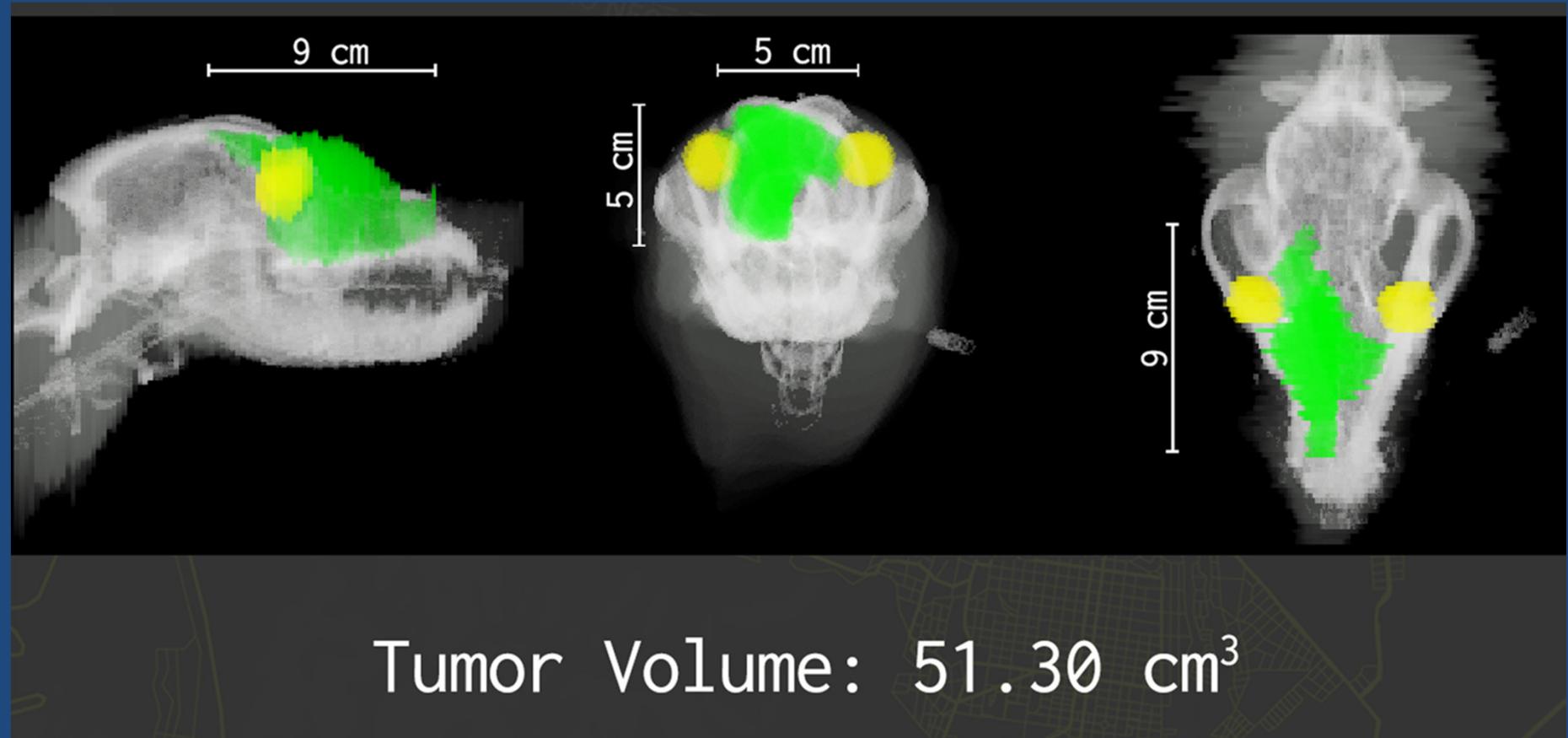
**Se considera que no tiene alternativa terapéutica y que en un plazo corto habrá que eutanasiarla**

**...REUNIÓN CON LOS DUEÑOS DE LUCY...**

# Posicionamiento para realizar la tomografía que se empleará para la planificación de tratamiento



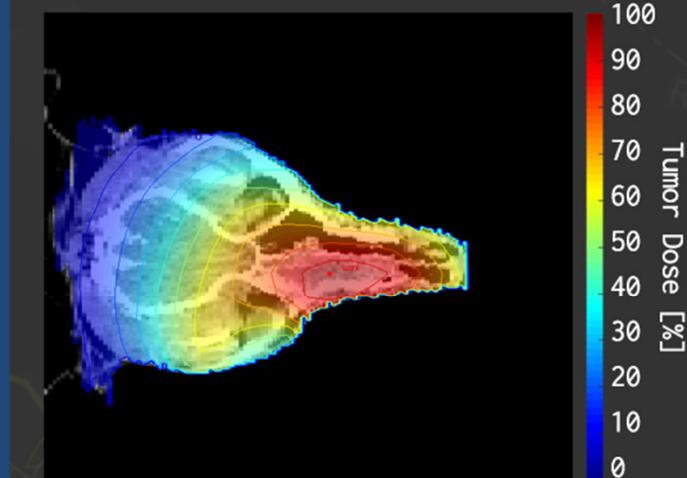
## Reconstrucción tridimensional de la anatomía del perro a partir de las imágenes de la tomografía



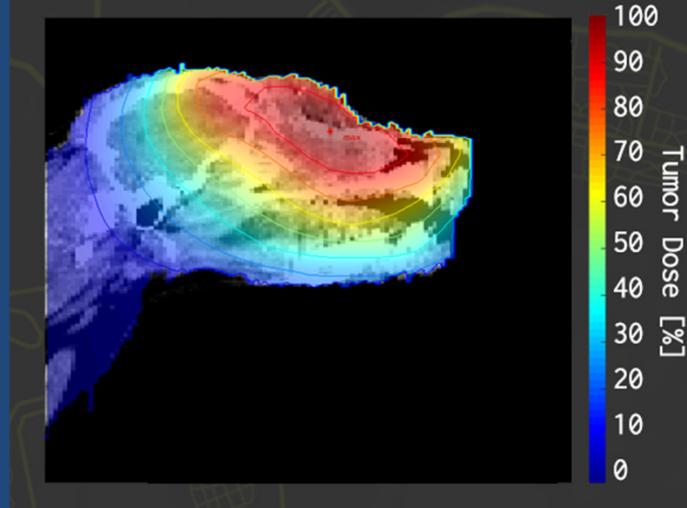
Gentileza de Lucas Provenzano

# Planificación de tratamiento

1st fraction (2 fields) + 3 weeks + 2nd fraction (2 fields)



	Tolerance Doses	Max Dose [Gy <sub>w</sub> ]	Mean Dose [Gy <sub>w</sub> ]	Min Dose [Gy <sub>w</sub> ]
Tumor		34.8	29.2	20.2
Right eye	$D_{\max} = 9.7 \text{ Gy}_w$	9.9	8.6	7.2
Left eye	$D_{\max} = 9.7 \text{ Gy}_w$	11.1	10	9.1
Brain	$D_{\text{mean}} = 7 \text{ Gy}_w \text{ per fr}$	10.6	6.2	2.7
Skin	$D_{\max} = 22 \text{ Gy}_w \text{ per fr}$	17.1	7.3	0.5
Mucosa region	$D_{\max} = 6 \text{ Gy per fr.}$	8		



Gentileza de Lucas Provenzano

# SALA DE SIMULACIÓN: POSICIONAMIENTO PRE PRIMER BNCT

## Primer campo





16 de julio de 2015  
En el aeropuerto ....

# PRIMERA IRRADIACIÓN, RA-6 CAB

Infusión de BPA: 350 mg BPA/kg



Preparación de  
BPA en el CAC:  
**Marcela  
Garabalino y  
Veronica Trivillin**



Mediciones de [B] en  
muestras de sangre  
(tomadas a distintos  
tiempos) en el ICP-OES:

**Marcela Garabalino y  
Marisil Olivera**



# Preparación pre posicionamiento frente al haz

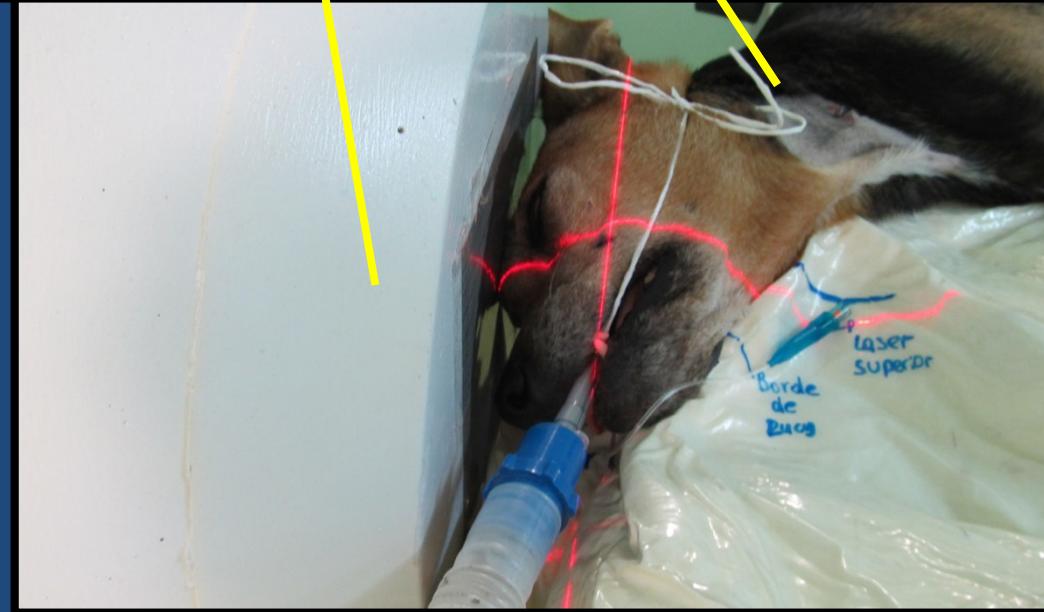


# Pre-irradiación, pre ingreso al bunker

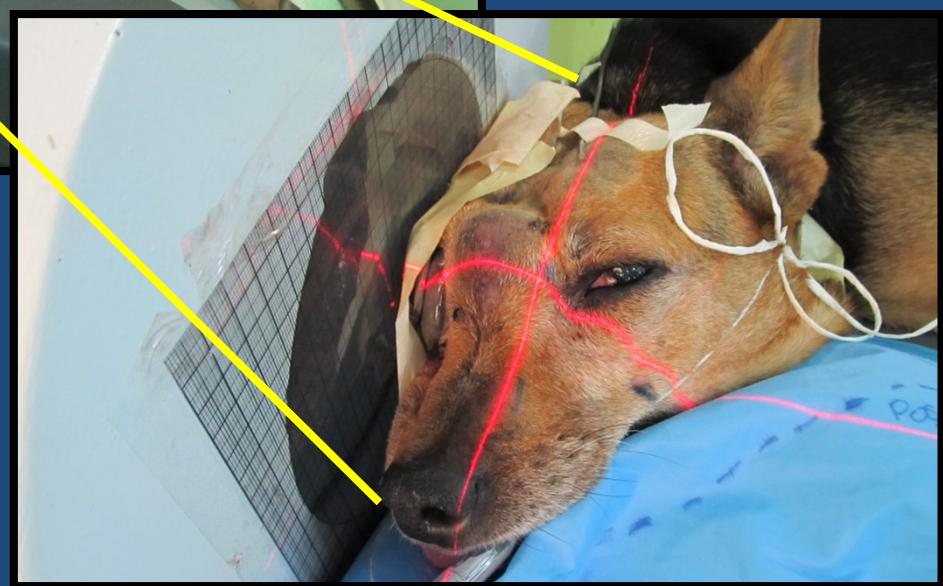


# PRIMERA IRRADIACIÓN, PRIMER CAMPO

Anestesia:  
Inducción  
con  
Midasolan y  
Ketamina y  
anestesia  
inhalatoria  
con  
Isofluorano



# PRIMERA IRRADIACIÓN, SEGUNDO CAMPO

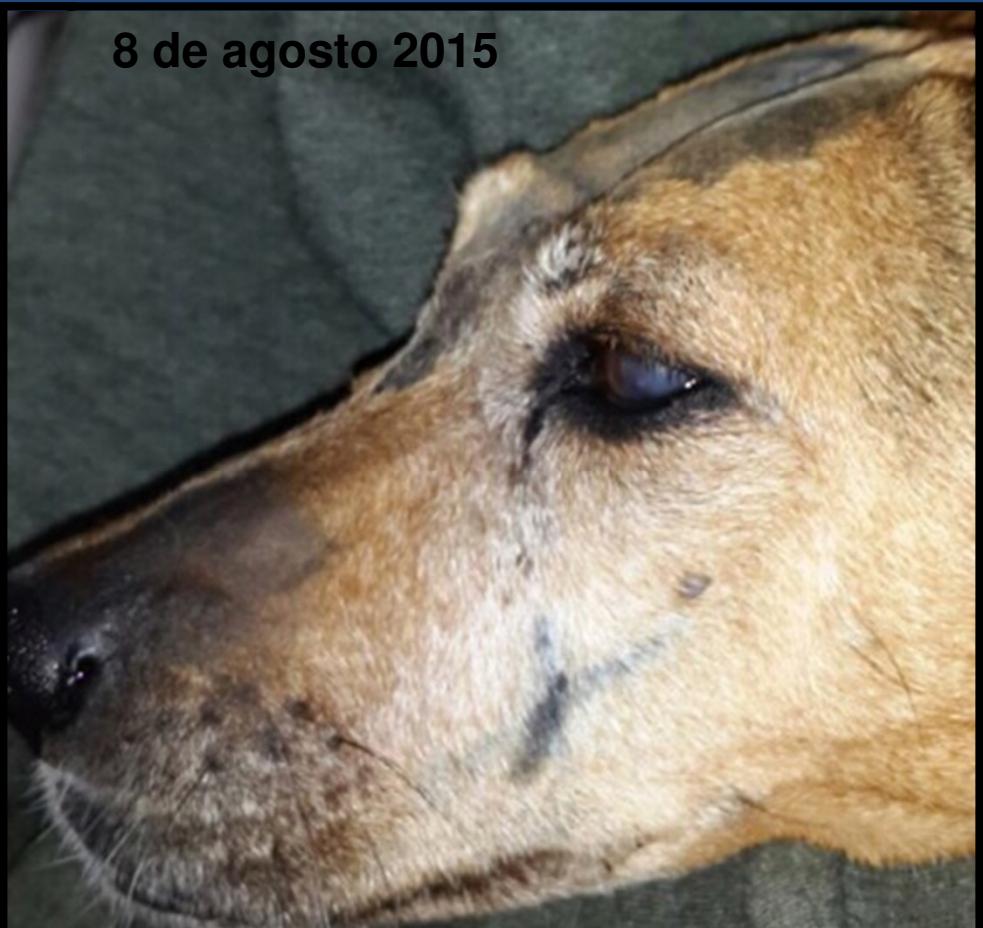


# Post-irradiación: toma de muestras (sangre, piel y tumor) para medición retrospectiva de concentración de boro



# LUCY POST IRRADIACIÓN

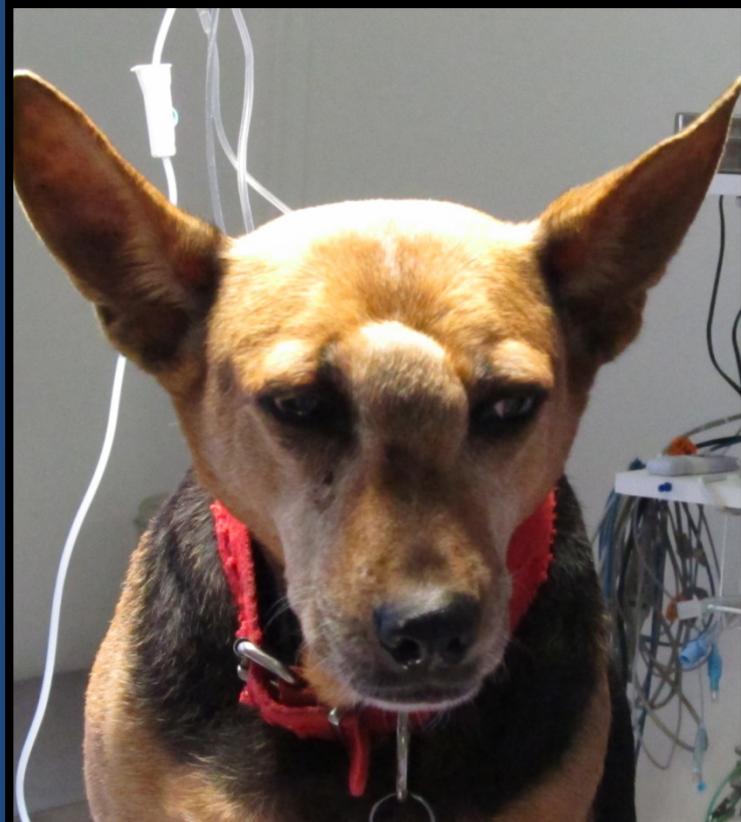
08 DE AGOSTO 2015 (1 DÍA POST SEGUNDA IRRADIACIÓN)



# LUCY POST IRRADIACIÓN

13 DE AGOSTO 2015 (6 DÍAS POST SEGUNDA IRRADIACIÓN)

30 de Junio 2015

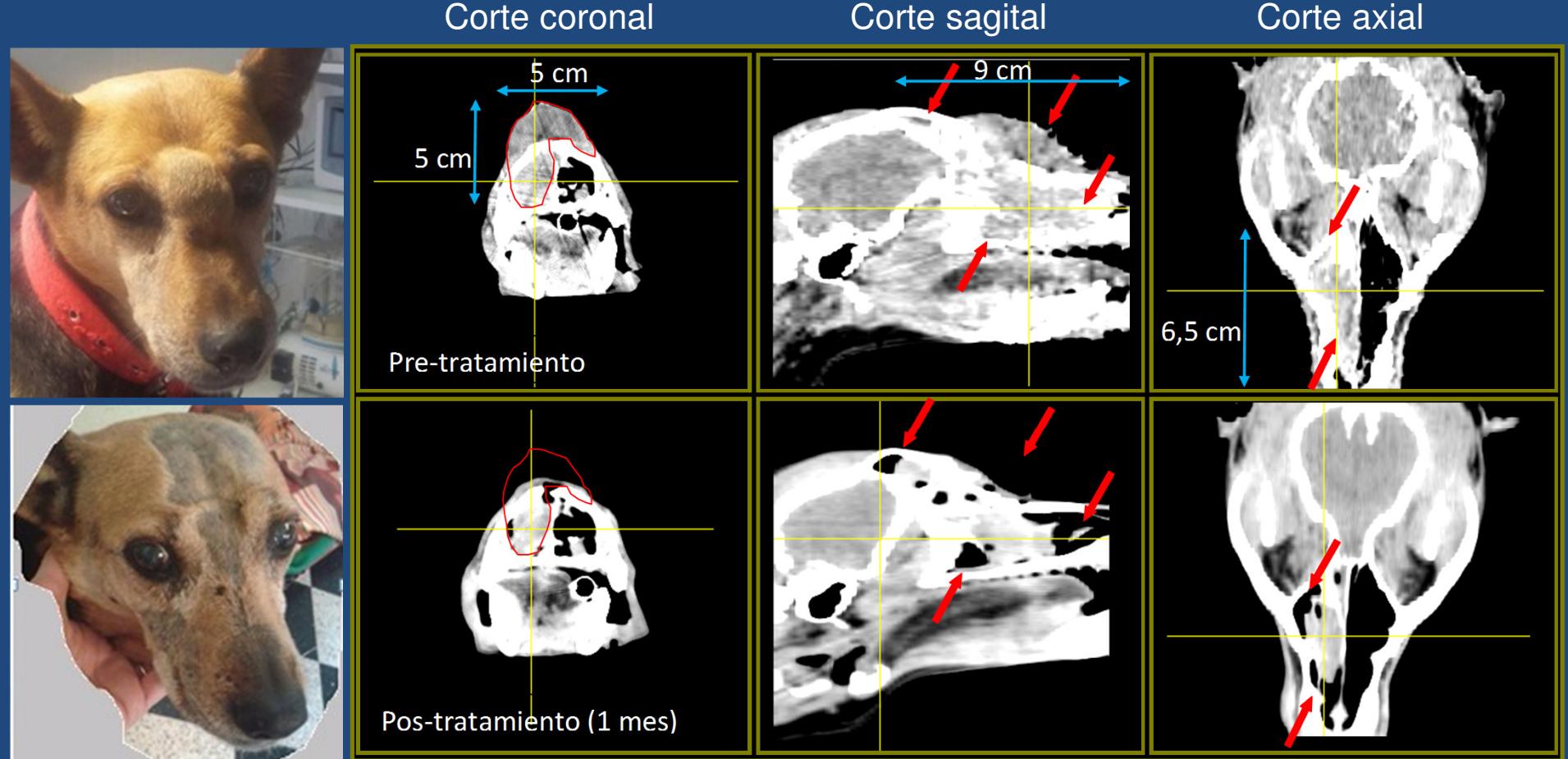


13 de agosto 2015



Toxicidad: leve keratosis nasal

## IMÁGENES TC, PRE-TRATAMIENTO: 1 JULIO 2015



## IMÁGENES TC, 1 MES POST SEGUNDA IRRADIACIÓN: 2 SEPTIEMBRE 2015

Gentileza de Sara González

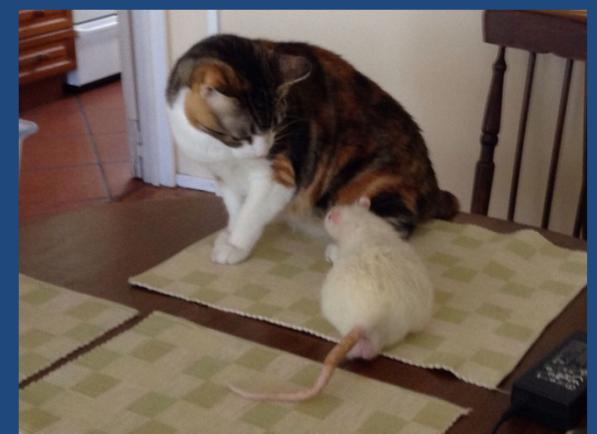


3 NOV 2015

La investigación translacional *in vivo* en modelos animales adecuados y los estudios preclínicos seguirán contribuyendo a la optimización de BNCT para distintas patologías y al diseño de protocolos clínicos seguros y eficaces.

El desarrollo, síntesis e investigación de compuestos borados "más cercanos al ideal" y los estudios para optimizar el targeting de boro con compuestos borados aprobados para su uso en humanos son estrategias complementarias para optimizar BNCT.

La aplicación combinada de BNCT y otras estrategias terapéuticas tiene gran potencial.





Gracias!