

# *Terapia por Captura Neutrónica en Boro (BNCT) para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello en modelos experimentales*

**Andrea Monti Hughes**

*Dra. en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires (UBA)*

*Lugar de trabajo:*

*División Patología de la Radiación, Depto. Radiobiología,  
Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA);  
Ciclo Básico Común, Universidad de Buenos Aires (UBA)*

Contacto: [andre.mh@gmail.com](mailto:andre.mh@gmail.com)  
[andrea.monti@cnea.gov.ar](mailto:andrea.monti@cnea.gov.ar)

# Cáncer de Cabeza y Cuello

Es el sexto cáncer más frecuente.

Los sitios más comunes: laringe, faringe y **cavidad bucal**, comenzando generalmente en las mucosas.

## Cáncer Bucal

### Principales factores de riesgo

Cigarrillo, Alcohol, Infección por HPV (virus de papiloma humano).

**Menos del 50% de sobrevida a largo plazo debido a las LIMITACIONES EN LOS TRATAMIENTOS CONVENCIONALES:**

- Extirpación quirúrgica incompleta: da origen a recidivas y segundos tumores primarios. Mutilación.
- Radioterapia y la quimioterapia: falta de selectividad de daño, radiotoxicidad.

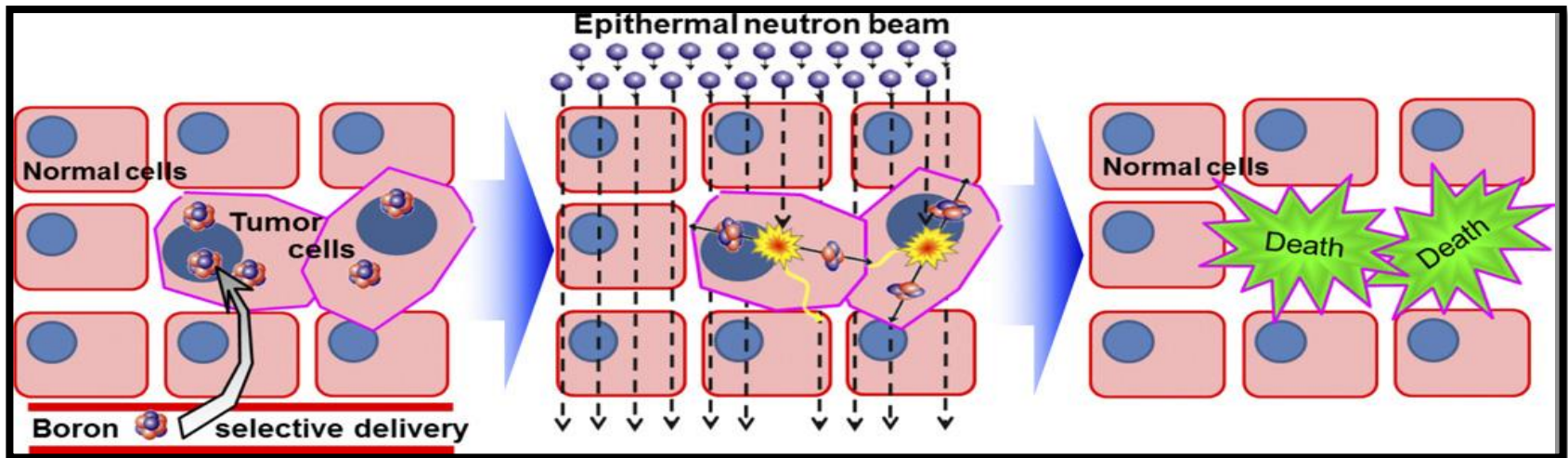
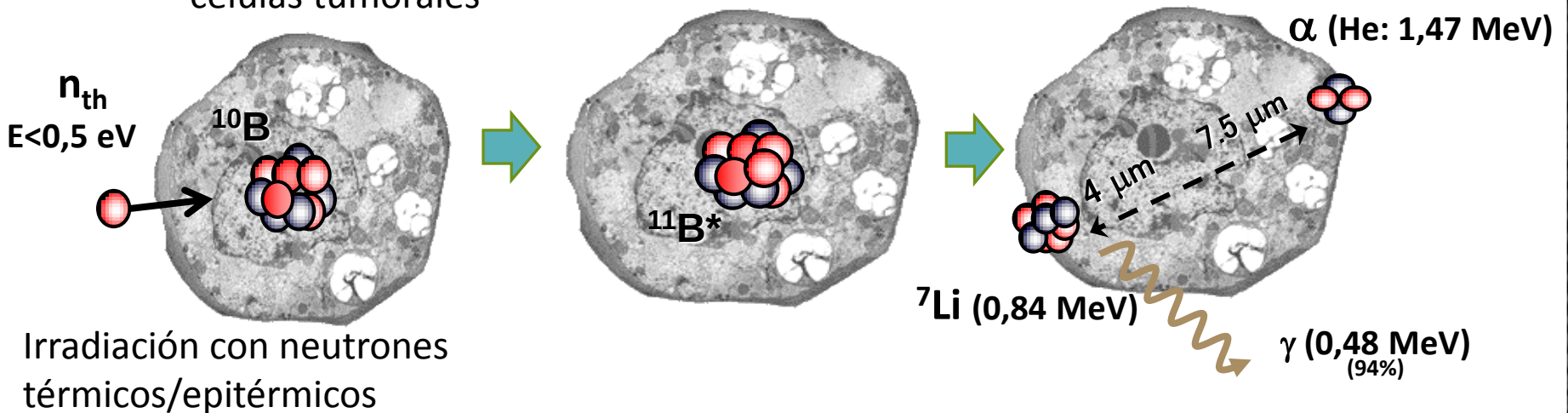


Carcinoma de células escamosas en la mucosa bucal humana.

Son necesarias nuevas terapias basadas en la destrucción selectiva y específica de las células tumorales preservando las células normales: Estudios en modelos experimentales resultan esenciales para avanzar en el tratamiento y diagnóstico.

# BNCT (Boron Neutron Capture Therapy – Terapia por Captura Neutrónica en Boro)

$^{10}\text{B}$  localizado preferencialmente en  
células tumorales





# MODELOS EXPERIMENTALES

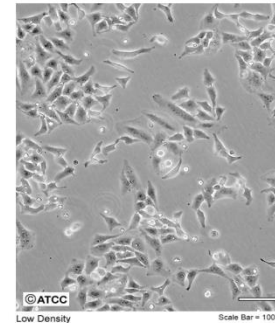
(*Ferriera et al 2013; Workman et al. 2010; Doke & Dhawale 2015*)

## CULTIVOS CELULARES - *IN VITRO*

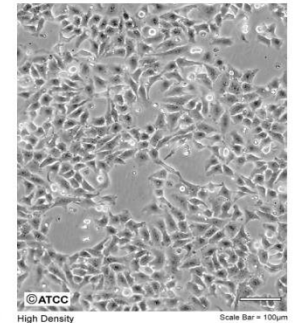
- Fácil y rápido, barato, reducción del uso de animales de laboratorio (ética).
- “Screening” de drogas y terapias potenciales para evaluar toxicidad y eficacia; Estudios genéticos, epigenéticos, y vías de señalización alteradas; Desregulación de la proliferación celular; Apoptosis; Progresión tumoral, etc.



ATCC Number: CCL-2  
Designation: HeLa



Low Density



High Density

## MODELOS ANIMALES - *IN VIVO*

- Nos permite estudiar cómo se desarrolla y metastatiza un tumor, estudiar el microambiente y la interacción entre ellos;
- Desarrollo de técnicas de diagnóstico y tratamiento;
- Necesarios para la aprobación clínica de una nueva droga, en cuanto a toxicidad y eficacia.



# INTERCAMBIO ENTRE ARGENTINA - ITALIA

PAVIA; Duración: 1 mes



## Objetivo

Intercambio de conocimientos de BNCT para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello en modelos experimentales *in vitro* (Italia) e *in vivo* (Argentina).

Lugar: Dipartimento di Scienze Clinico Chirurgiche,  
Diagnostiche e Pediatriche, Universidad de Pavia, Italia

**Grupo de trabajo:**

Directora:

Dra. Cinzia Ferrari

*Laura Cansolino*

*Ana Maria Clerici*

*Cristina Rovelli*



## MODELO EXPERIMENTAL *IN VITRO* DE CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO

- Cultivo de células 16A-UTSCC (carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello humanas; University Turku Squamous Cell Carcinoma-UT 16a Tongue Primary).
- Irradiación de las células UTSCC en la columna térmica del reactor TRIGA Mark II de la Universidad de Pavia.
- Cálculo de supervivencia celular post irradiación.



Departamento de Radiobiología,  
Centro Atómico Constituyentes,  
Comisión Nacional de Energía Atómica,  
Argentina.



Comisión Nacional  
de Energía Atómica

Grupo de Trabajo:

**Directora: Dra. Mandy Schwint**

**Co-Directora: Dra. Verónica Trivillin**

Lic. Lisien Heber

Dr. Emiliano Pozzi

Dra. Andrea Monti Hughes

Dra. Marcela Garabalino

Iara Santa Cruz (estudiante Carrera Cs. Biológicas)



**MODELO EXPERIMENTAL *IN VIVO* DE CÁNCER BUCAL:  
BOLSA DE LA MEJILLA DEL HÁMSTER**



# MODELO EXPERIMENTAL *IN VIVO* DE CÁNCER BUCAL: BOLSA DE LA MEJILLA DEL HÁMSTER

- Mundialmente aceptado para el estudio del cáncer bucal.
- Similar a un “bolsillo” en el espesor de cada mejilla.
- Similitud con la mucosa bucal humana.
- La localización de los tumores en la bolsa correlaciona con la de los fumadores de tabaco.
- Ausencia de tumores espontáneos.
- Resulta fácilmente evertible para su irradiación y seguimiento.

*Mesocricetus auratus*



Extendida para su irradiación.



Evertida para su seguimiento.



# PROTOCOLO DE CANCERIZACIÓN CLÁSICO

Carcinógeno dimetil-1,2-benzantraceno (DMBA) en aceite mineral (0,5%), 2 veces por semana, durante 12 semanas.

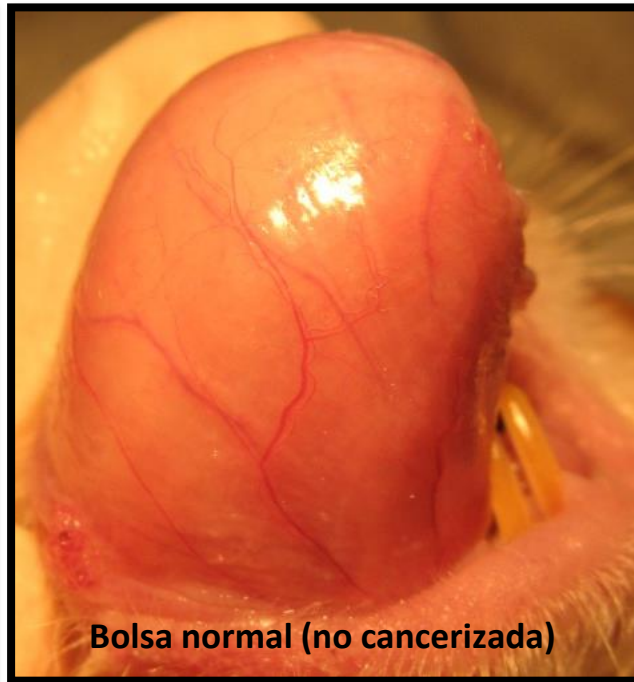
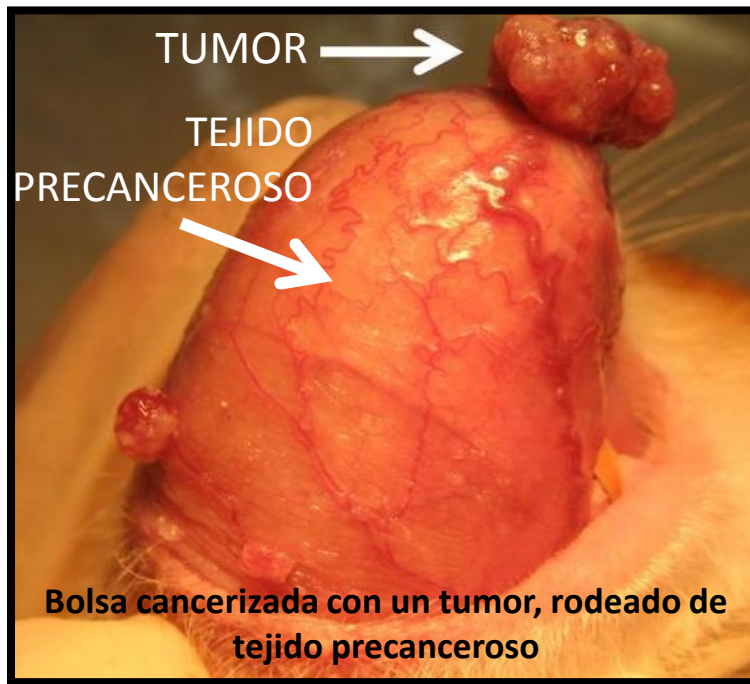
- Sin anestesia.
- DMBA: prototipo de los hidrocarburos policíclicos aromáticos implicados en el desarrollo del cáncer bucal humano.
- El modo de cancerización, en donde el carcinógeno se extiende por toda la mucosa, imita la acción del tabaco y el alcohol en humanos.
- Es un protocolo agresivo (alta dosis de carcinógeno) para desarrollar tumores a corto plazo (un mes).



Topicación con DMBA 0,5% en aceite mineral.



Bolsa cancerizada con un tumor, rodeado de tejido precanceroso



- ✓ Permite el estudio del tumor y del tejido precanceroso que rodea al tumor, a diferencia de aquellos modelos de implantación de células malignas en tejido normal.
- ✓ En la bolsa coexisten diferentes lesiones o estados de la cancerización, lo que resulta en otra similitud entre el modelo de hámster y la cancerización bucal espontánea en humanos.

Al conjunto de lesiones morfológicas microscópicas y al campo cancerizado sin lesiones morfológicas (NUMF) alrededor de los tumores: **TEJIDO CON CANCERIZACIÓN DE CAMPO o TEJIDO PRECANCEROSO.**

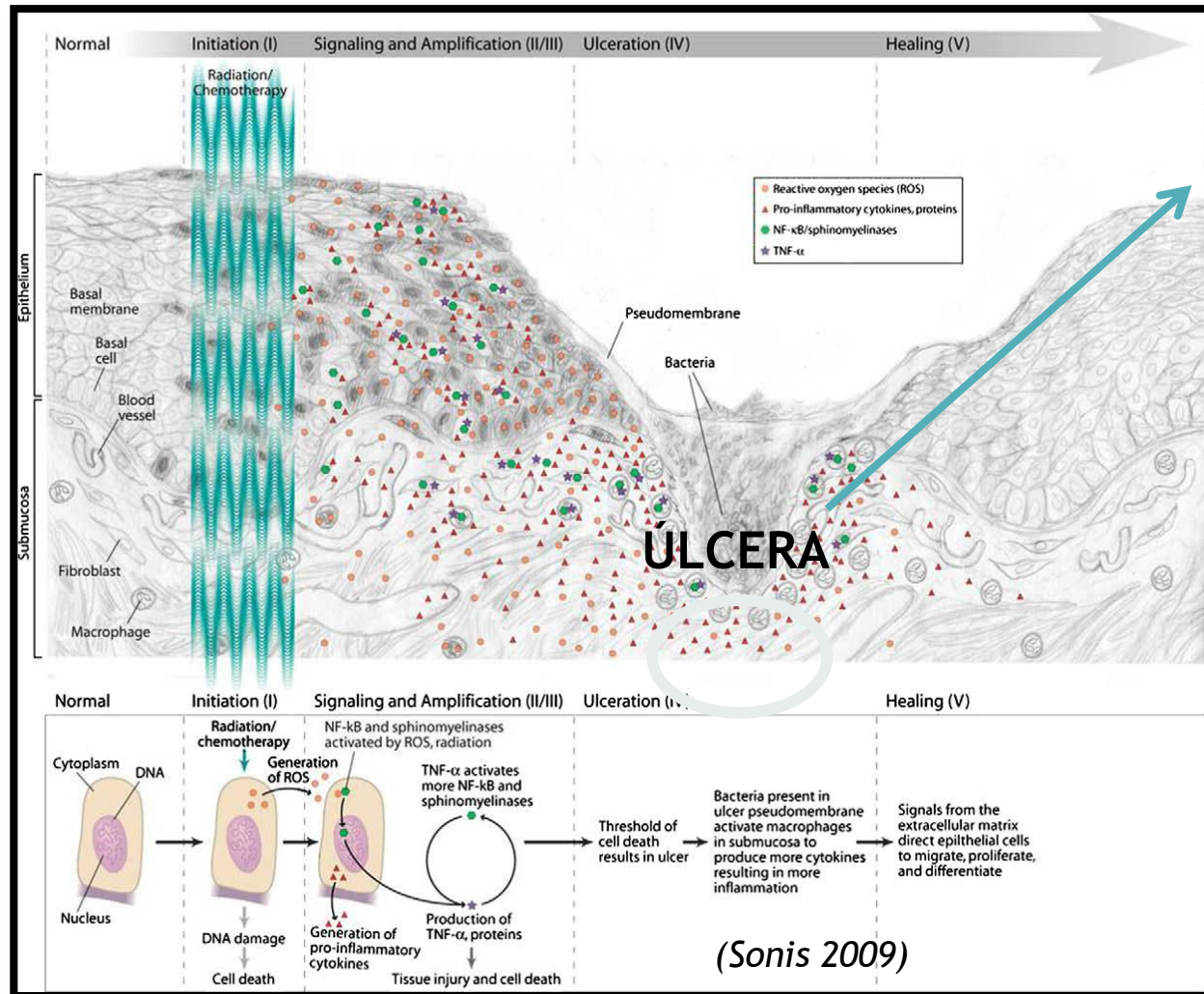
# SIGNIFICANCIA CLÍNICA DEL ESTUDIO DEL TEJIDO PRECANCEROSO

- Desafío para las terapias oncológicas: inhibir la aparición de nuevos tumores en el tejido precanceroso que rodea al tumor post tratamiento, que **reducen el tiempo de sobrevida del paciente.**
- A su vez, las terapias inducen un efecto radiotóxico en el tejido precanceroso que limita la dosis entregada a tumor y afecta la calidad de vida de los pacientes: **MUCOSITIS.** Actualmente, la prevención y tratamiento de la mucositis constituye una necesidad médica no resuelta en la práctica oncológica.



# Modelo de mucositis: bolsa de la mejilla del hámster

“Mucositis”: reacción inflamatoria y lesiones ulcerativas de la boca y orofaringe que ocurren secundariamente a la quimio, radioterapia y BNCT.



**Ulceración y Necrosis:** eventos de mayor importancia asociados a la mucositis. Limitan la dosis, conllevan dolor, riesgo a la infección y aumento del uso de los recursos hospitalarios.

MODELO DE MUCOSITIS  
(Bowen et al. 2011)



## Estudios previos realizados en nuestro laboratorio

- Nuestro laboratorio propuso y validó, por primera vez, el uso del modelo de cáncer bucal de la bolsa de la mejilla del hámster para estudios de BNCT. Fueron estudios precursores de los ensayos clínicos de BNCT para tumores de cabeza y cuello en Japón y Finlandia (*Kreimann et al. 2001*).
- Protocolo **CLÁSICO** de carcinogénesis (DMBA 2/sem., 12 semanas): Eficacia terapéutica del **BNCT mediado por BPA, GB-10 y (GB-10+BPA)** para el tratamiento de tumores a *corto* plazo (1 mes: modelo agresivo en términos de desarrollo tumoral) (*Trivillin et al. 2006; Pozzi et al. 2009*).



**DESAFÍO PENDIENTE:** Encontrar un modelo que nos permita realizar un seguimiento a largo plazo (8 meses) para estudiar el desarrollo de nuevos tumores en el tejido precanceroso y la mucositis inducida por BNCT en este tejido.

Un modelo menos agresivo en términos de desarrollo tumoral imitaría mas cercanamente al tejido precanceroso bucal humano.

# Desarrollo y caracterización del modelo de cancerización de campo para estudios de BNCT a *largo* plazo (Heber et al. 2010)

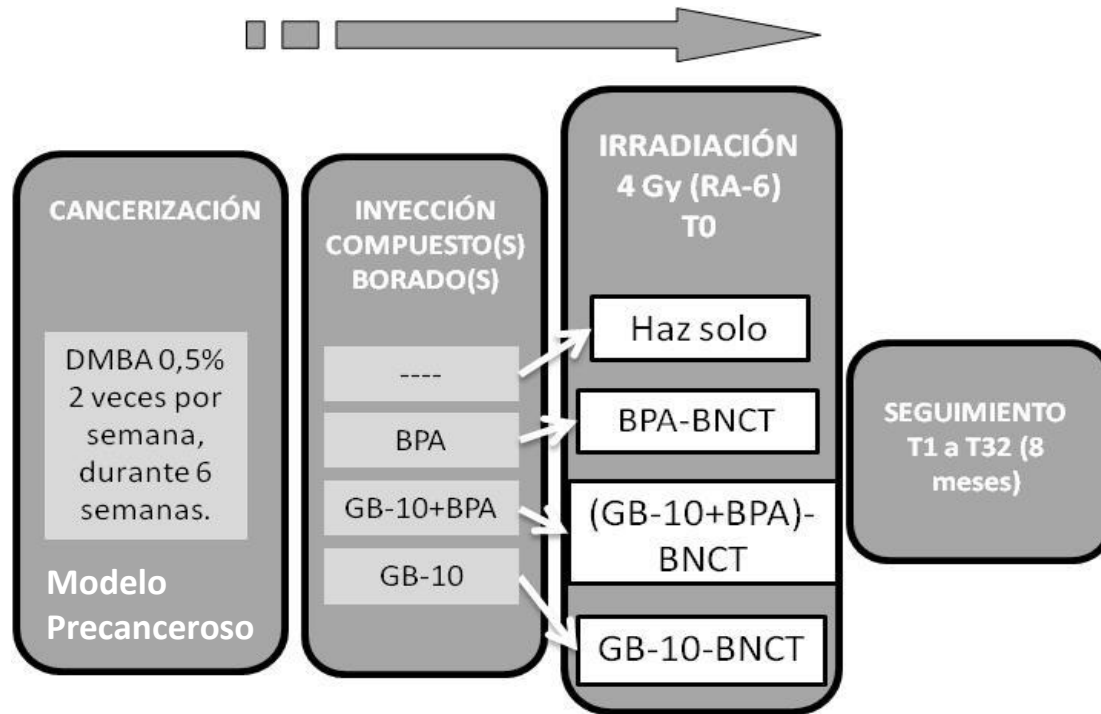
|                                                                                                         |                                                                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Protocolo<br>4 semanas                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Seguimiento a <i>largo</i> plazo (8 meses)</li><li>• 38% de animales con tumor.</li></ul> |
|  Protocolo<br>6 semanas | <ul style="list-style-type: none"><li>• Seguimiento a largo plazo (8 meses).</li><li>• 93% de animales con tumor.</li></ul>       |
| Protocolo<br>7 semanas                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Seguimiento a plazo intermedio (3 meses).</li><li>• 90% de animales con tumor.</li></ul>  |
| Protocolo<br>8 semanas                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Seguimiento a plazo intermedio (3 meses).</li><li>• 100% de animales con tumor.</li></ul> |
| Protocolo<br>12 semanas                                                                                 | <ul style="list-style-type: none"><li>• Seguimiento a corto plazo (1 mes).</li><li>• 100% de animales con tumor.</li></ul>        |

- Efecto inhibitorio de BNCT sobre el desarrollo de nuevos tumores a largo plazo (8 meses).
- Mucositis inducida por BNCT en el modelo de tejido precanceroso.
- Factibilidad del uso de radioprotectores para inhibir la mucositis en el tejido precanceroso.



# BNCT EN EL MODELO DE PRECANCER BUCAL - RA-6 (Bariloche)

Monti Hughes et al. 2009



## Seguimiento de los animales durante 8 meses:

### **Estado general:**

Estado clínico y peso semanal.

### **Radiotoxicidad:**

En términos de mucositis.

### **Desarrollo tumoral:**

Porcentaje acumulado de animales con tumores nuevos respecto al momento de la irradiación.



# RA-6 (Año 2007; configuración B1)



Sala de  
irradiación y  
puerto del  
haz

# BNCT 4Gy - RA-6 / MODELO DE PRECANCER BUCAL

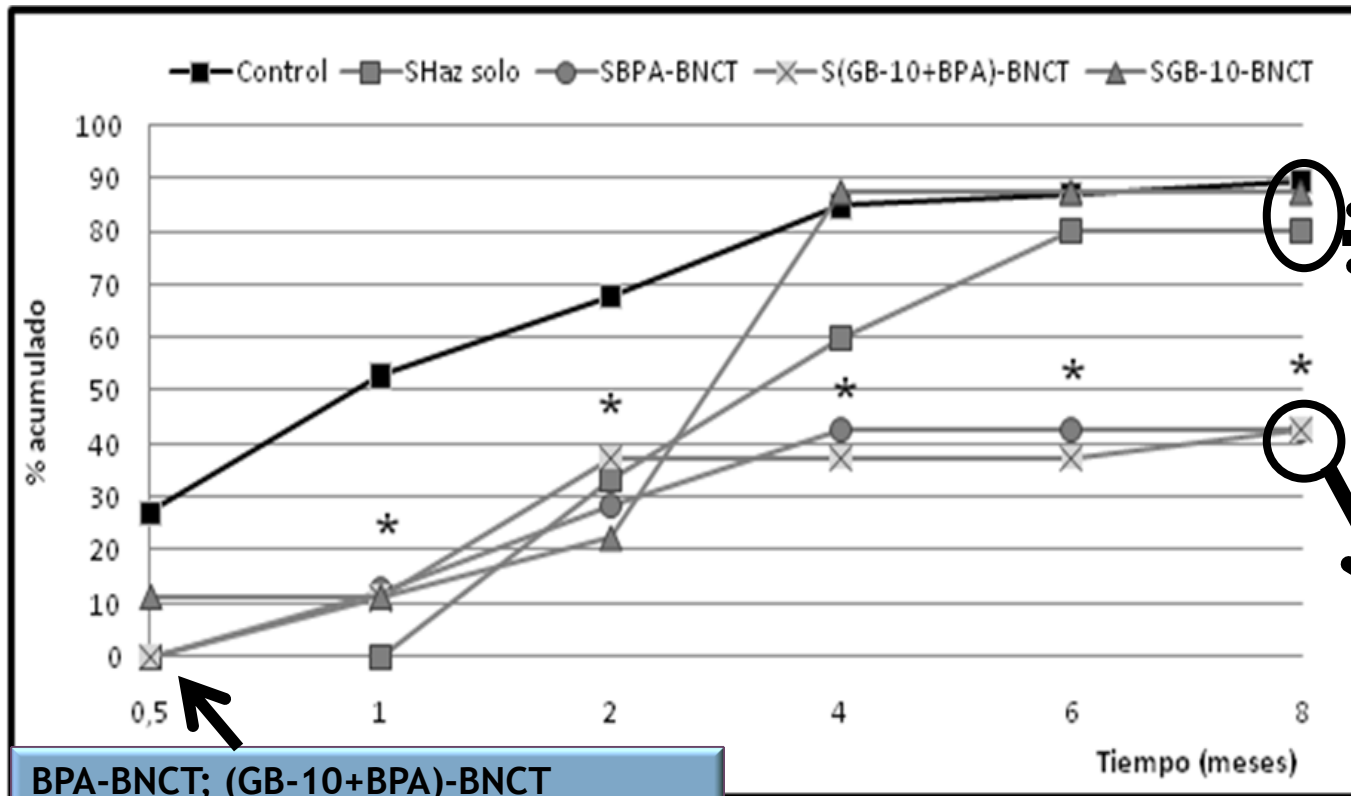
Monti Hughes et al. 2009

## RADIOTOXICIDAD

- Mucositis temprana, leve-moderada y reversible.
- Resultó mayor y más frecuente en el grupo BPA-BNCT vs (GB-10+BPA)-BNCT.

Porcentaje (%) acumulado de animales que desarrollaron tumores nuevos.

(\*: significancia estadística versus el grupo control. Test exacto de Fisher;  $p \leq 0,05$ )



Control  
GB-10-BNCT  
Haz solo  
80-89% de  
animales con  
tumores nuevos.

BPA-BNCT  
(GB-10+BPA)-  
BNCT  
43% de animales  
con tumores  
nuevos.

BPA-BNCT; (GB-10+BPA)-BNCT  
0% de animales con tumores nuevos  
hasta las 2 semanas post BNCT.



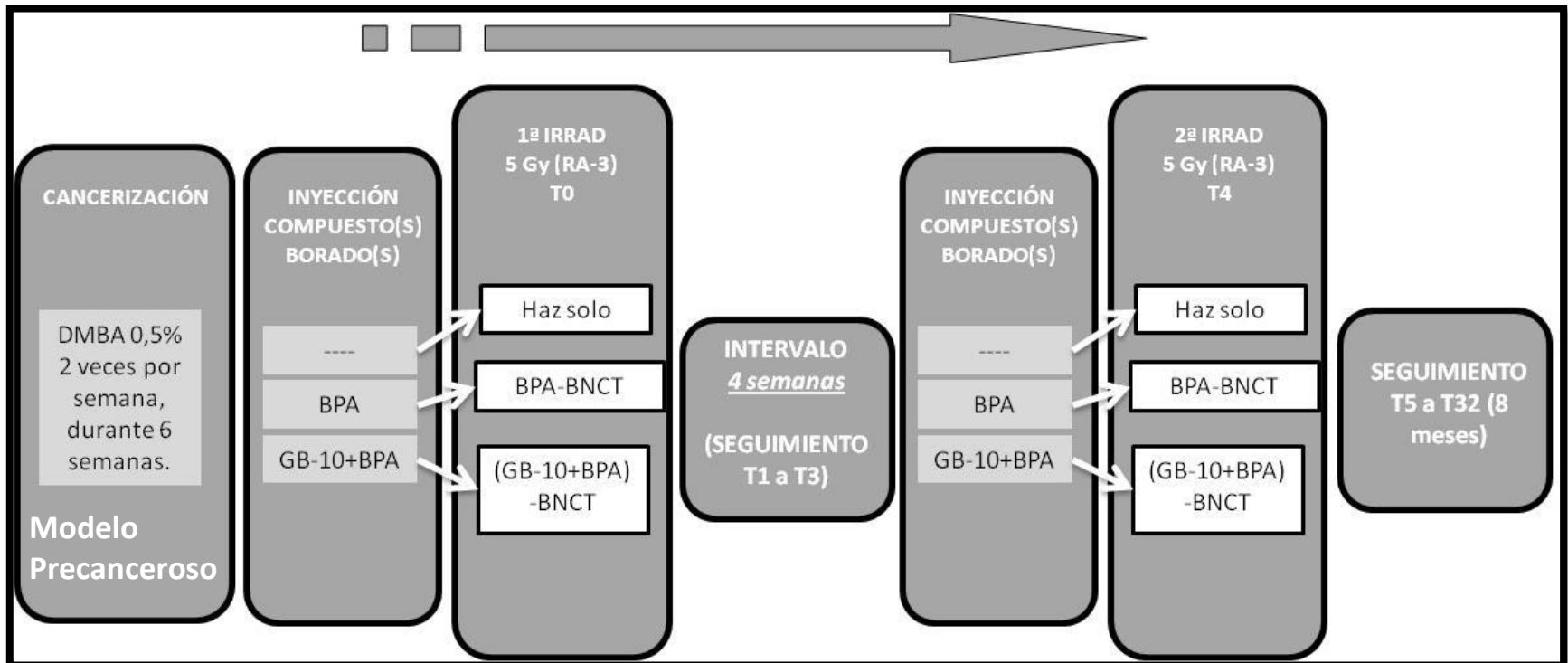
## BPA-BNCT y (GB-10+BPA)-BNCT

Baja radiotoxicidad de una única aplicación de BNCT  
Inhibición significativa del desarrollo tumoral a largo plazo

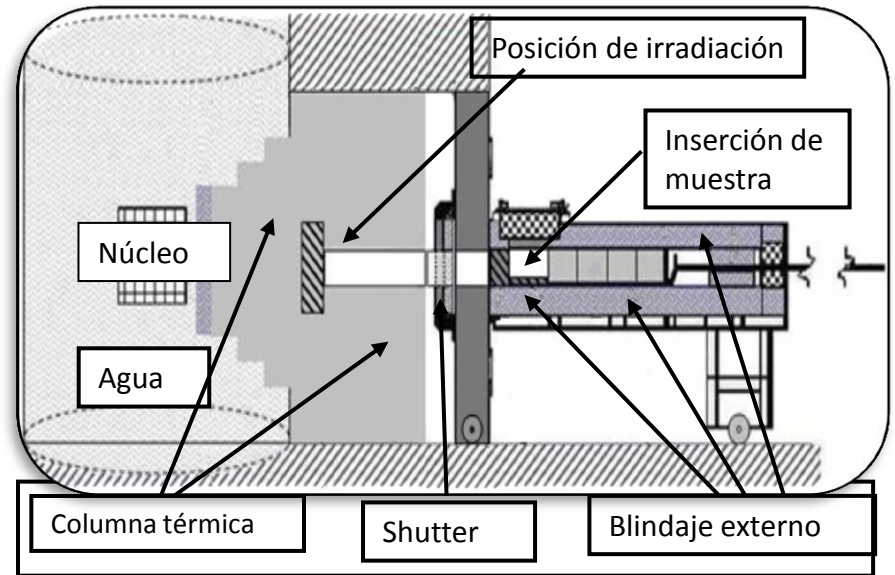
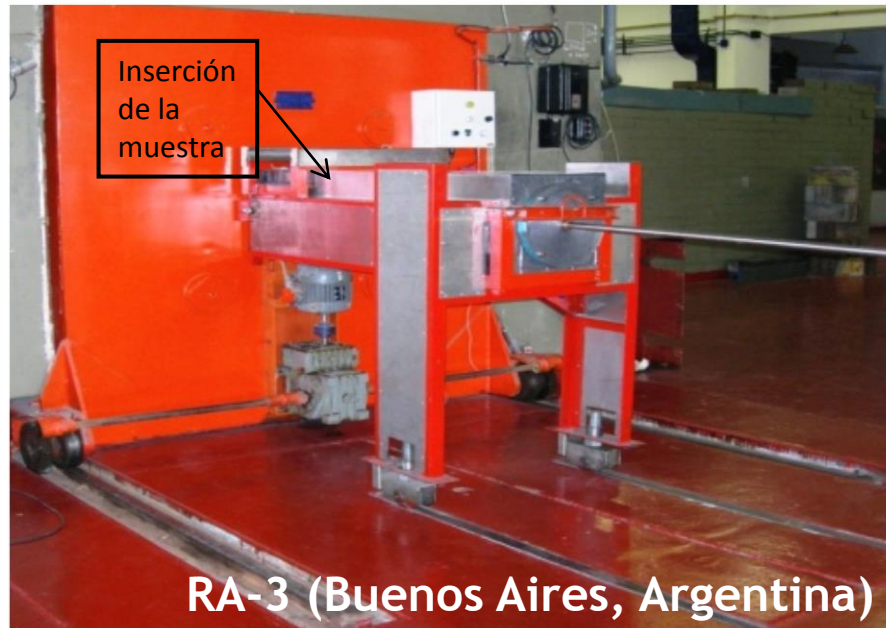


Se ensayaron diversos protocolos de BNCT: único y doble BNCT, diferentes dosis e intervalo entre irradiaciones (*Monti Hughes et al. 2011, 2013*).

**Doble BNCT 5Gy cada irradiación, 10Gy total - RA-3 (Ezeiza, Bs As)**  
**INTERVALO: 4 semanas** (*Monti Hughes et al. 2013*)



# IRRADIACIONES EN LA FACILIDAD TÉRMICA DEL RA-3 (Ezeiza, Bs As)



Los animales son insertados en una «nube» de neutrones mientras el reactor se encuentra en operación.

**DR. EMILIANO POZZI**  
**24/04/2017 - 12:10HS**



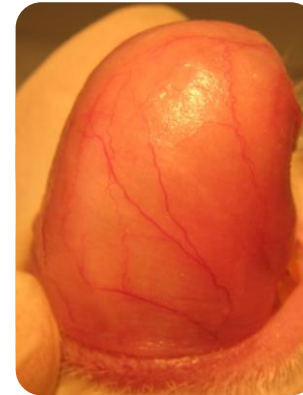
# Doble BNCT 5Gy cada irradiación, 10Gy total - RA-3

INTERVALO: 4 semanas (Monti Hughes et al. 2013)

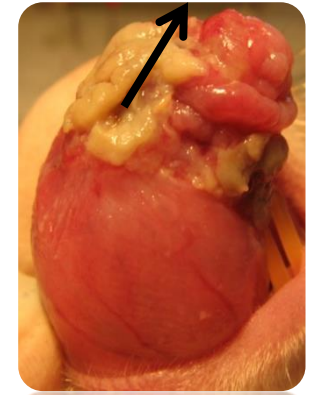
## RADIOTOXICIDAD

DBPA-BNCT 67% de los animales exhibieron mucositis severa vs D(GB-10+BPA)-BNCT 33% de animales con mucositis severa.

**D(GB-10+BPA)-BNCT MENOR RADIOTOXICIDAD**



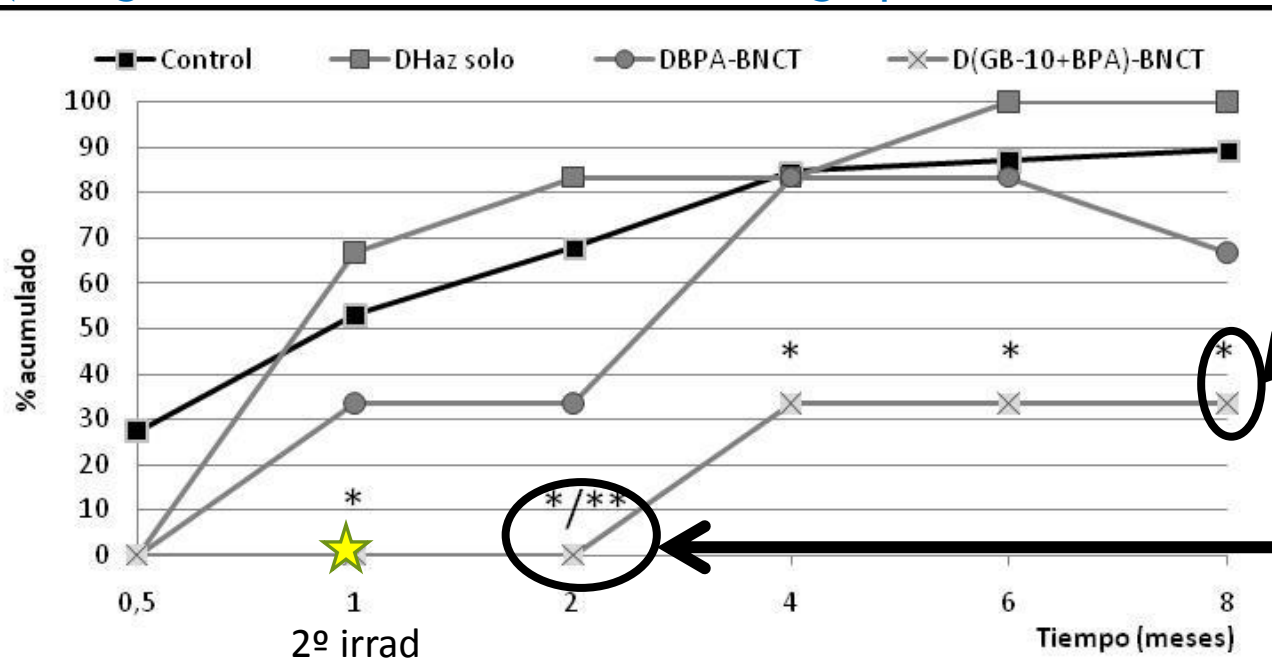
SIN MUCOSITIS



MUCOSITIS SEVERA

Porcentaje (%) acumulado de animales que desarrollaron tumores nuevos.

(\*: significancia estadística versus el grupo control. Test exacto de Fisher;  $p \leq 0,05$ )



**D(GB-10+BPA)-BNCT**  
33% de animales con tumores nuevos a los 8 meses post BNCT.

**D(GB-10+BPA)-BNCT**  
0% de animales con tumores nuevos hasta los 2 meses post BNCT.



# CONCLUSIÓN GENERAL

- Demostramos el éxito terapéutico del doble BNCT en tejido precanceroso en el modelo de precancer en hámster.

*La segunda irradiación estaría atacando poblaciones celulares que no fueron eliminadas en la primer irradiación, evitando la repoblación de células tumorales en el tejido.*

- Sin embargo, **la mucositis limita la dosis entregada en tejido precanceroso.**  
*Escenario clínico: la mucositis bucal limita la dosis de tratamiento en cáncer de cabeza y cuello en humanos y afecta la calidad de vida del paciente. La prevención y tratamiento de la mucositis aún no está resuelto.*

## RADIOPROTECTOR IDEAL

- Debe ser no tóxico
  - Reducir la incidencia de mucositis severa
- No comprometer el efecto terapéutico del BNCT

*Medina et al. 2007, 2011* mostraron que la **histamina** inhibió la toxicidad inducida por la radiación gamma en la mucosa intestinal, médula ósea y glándulas salivales de ratones y ratas.

## COLABORACIÓN NACIONAL

# BPA-BNCT 5Gy + HISTAMINA - RA-3 (Monti Hughes et al. 2015)

Histamina: No tóxica  
(solo irritación en el lugar de aplicación)



| PROTOCOLOS                              | % ANIMALES CON MUCOSITIS SEVERA | % ANIMALES CON NUEVOS TUMORES (8 meses post BNCT) |
|-----------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------|
| CONTROL: BPA-BNCT + salina              | 55%                             | 67%                                               |
| BPA-BNCT + Histamina 1mg/kg, 16 días    | 17%                             | 40%                                               |
| BPA-BNCT + Histamina 5 mg/kg, 16 días   | 67%                             | 50%                                               |
| Cancerizados, sham irradi (sin tratam.) | 0%                              | 89%                                               |

Histamina 1mg/kg, 16 días disminuye la mucositis severa y no perjudica el efecto terapéutico del BNCT.

Histamina y BPA están aprobados para su uso en humanos. Esto achicaría la brecha entre la aplicación básica y la clínica.



BPA-BNCT  
MUCOSITIS SEVERA

BPA-BNCT + HISTAMINA 1mg/kg,  
16d: MUCOSITIS LEVE

Los intercambios y colaboraciones entre diferentes grupos resultan sumamente importantes para el avance en el tratamiento contra el cáncer.

El trabajo en equipo a nivel mundial enriquece el conocimiento de cada grupo y acorta la búsqueda conjunta de nuevos protocolos que aumenten la eficacia del BNCT.

**GRACIAS!**  
**GRAZIE!**

Contacto:

[andre.mh@gmail.com](mailto:andre.mh@gmail.com)

[andrea.monti@cnea.gov.ar](mailto:andrea.monti@cnea.gov.ar)

Ma la collaborazione non è solo per la ricerca ma anche per fare nuovi buoni amici !!!

