



Comisión Nacional de Energía Atómica

Estudios de biodistribución de boro en modelos experimentales de cáncer para BNCT

Dra. Marcela Alejandra GARABALINO

**División Patología de la Radiación, Departamento de Radiobiología,
GAATEN, CAC, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)**

Terapias para el tratamiento del cáncer

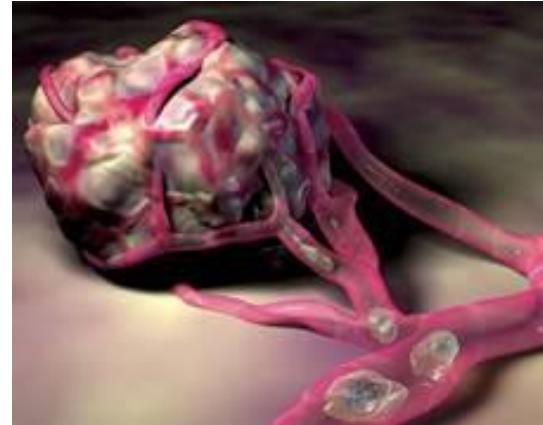
✓Objetivo

Dañar específica y selectivamente las
Células tumorales
preservando al tejido normal

Tratamiento
del cáncer

DESAFIO

Mejorar la
entrega de
compuestos
a Tumores
Sólidos

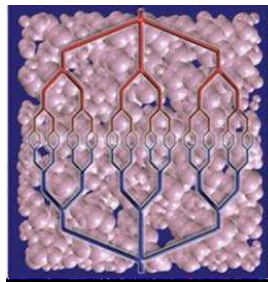


Dificultad en la entrega de agentes a Tumores Sólidos

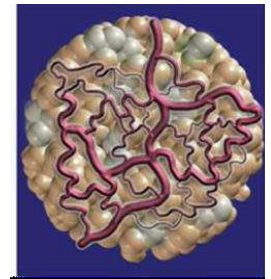
Vasculatura tumoral

- Vasos sanguíneos heterogéneos (con respecto a su organización, función y estructura)
- Distribución muy poco uniforme y caótica
 - Exhibe curso serpenteante, ramificaciones irregulares y forman anastomosis arteriovenosas
- Flujo sanguíneo inconstante y no unidireccional
- Anormal estructura de paredes vasculares

- ✓ Flujo sanguíneo heterogéneo
- ✓ Hipertensión intersticial
- ✓ Hipoxia
- ✓ Acidosis

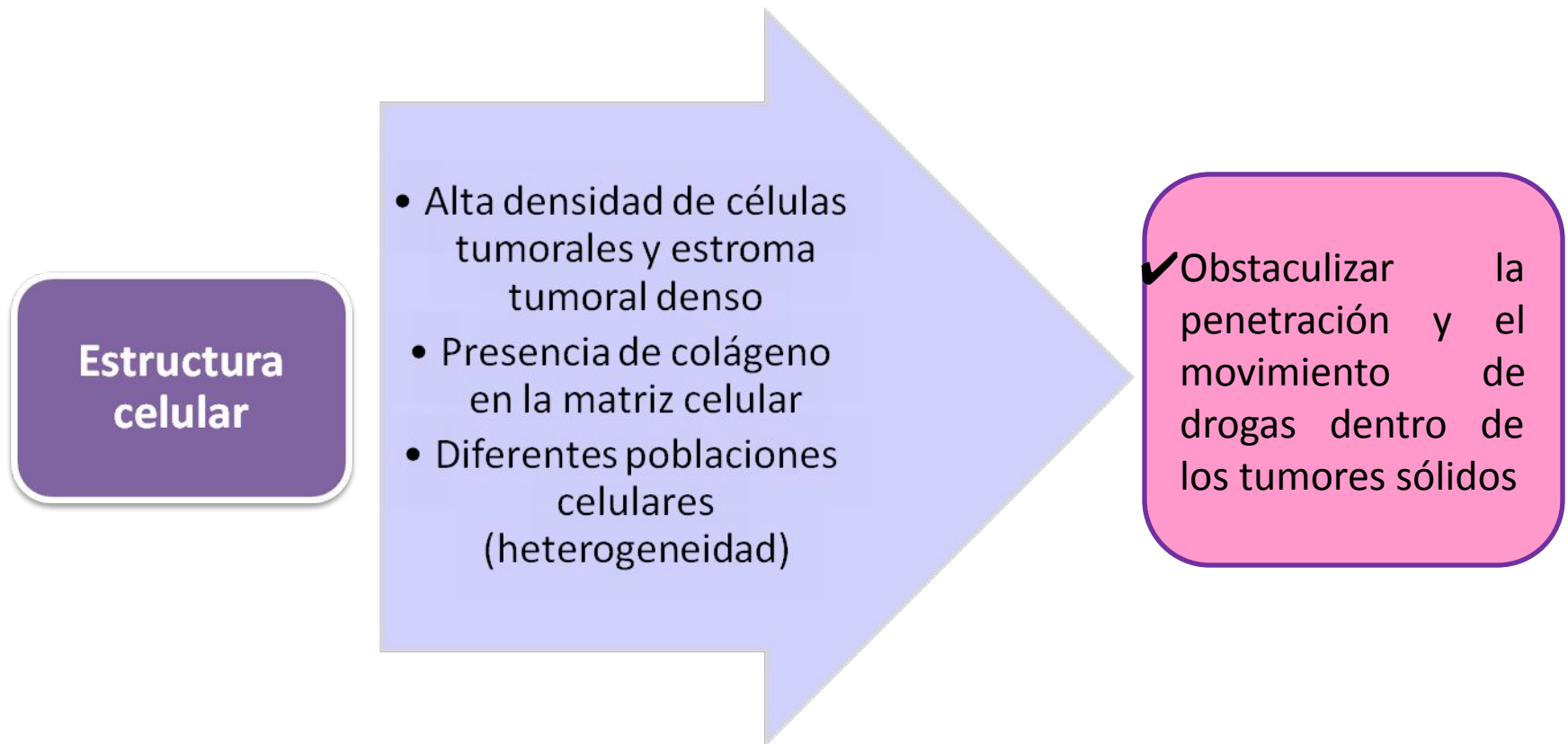


Vasculatura Normal



Vasculatura Anormal

Dificultad en la entrega de agentes a Tumores Sólidos



Qué es BNCT?: Terapia por Captura Neutrónica en Boro

BNCT

aplicación de la
tecnología nuclear
al área biomédica

✓ **Objetivo**

actuar selectivamente
sobre un
tejido neoplásico

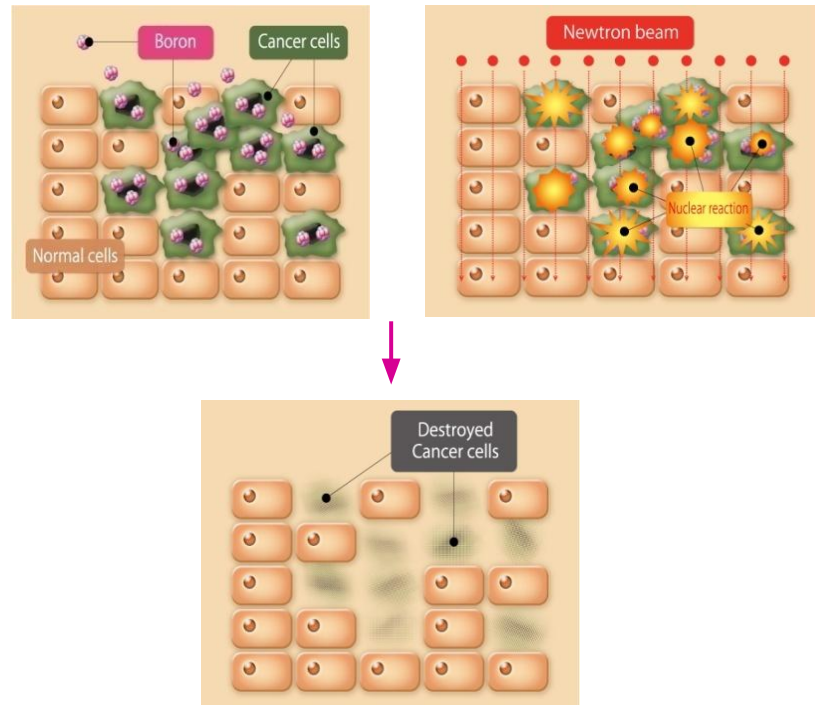
✓ **Modalidad**

tratamiento binario

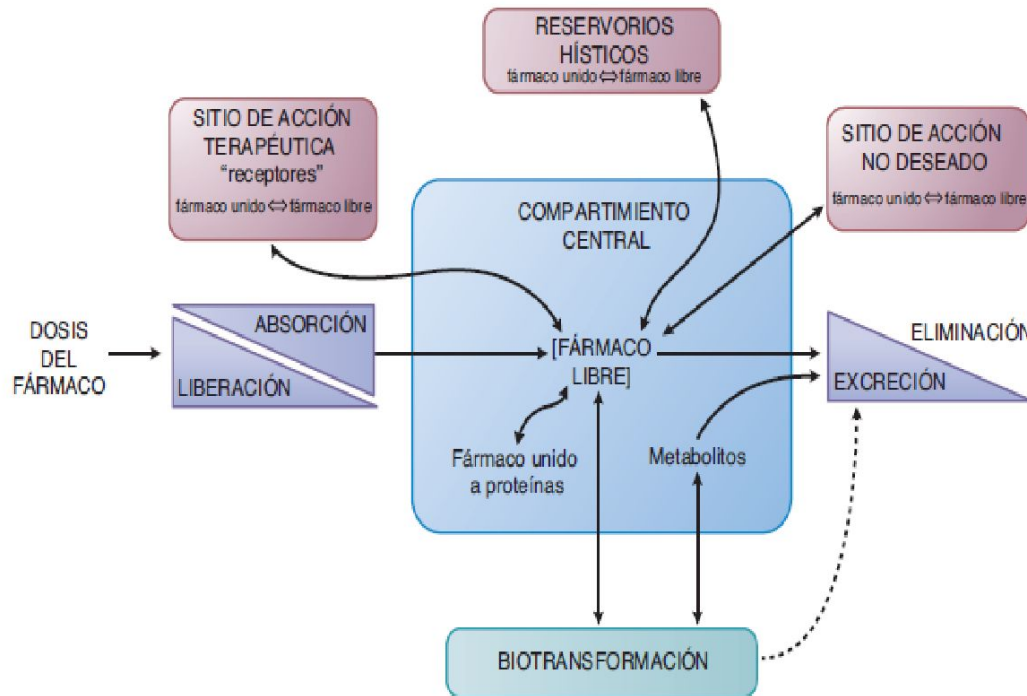
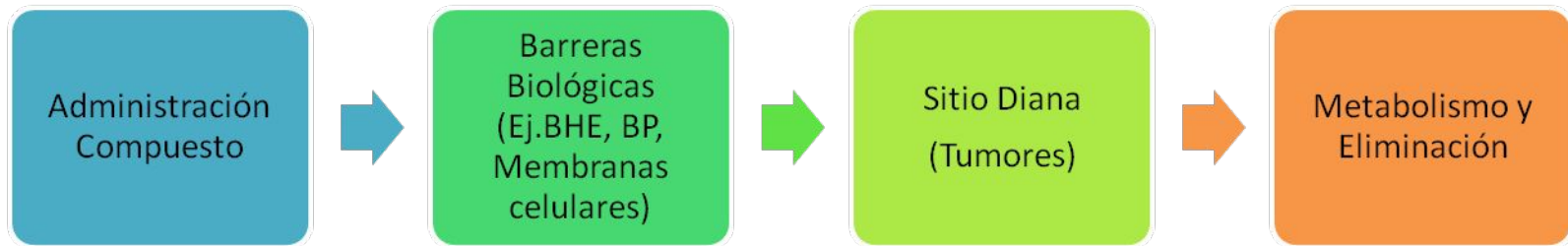
BNCT: Terapia Binaria

1ª componente: acumulación selectiva de portadores de ^{10}B en CÉLULAS TUMORALES

2ª componente: irradiación con neutrones térmicos en TEJIDOS NORMAL Y TUMORAL



Conceptos generales de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME)

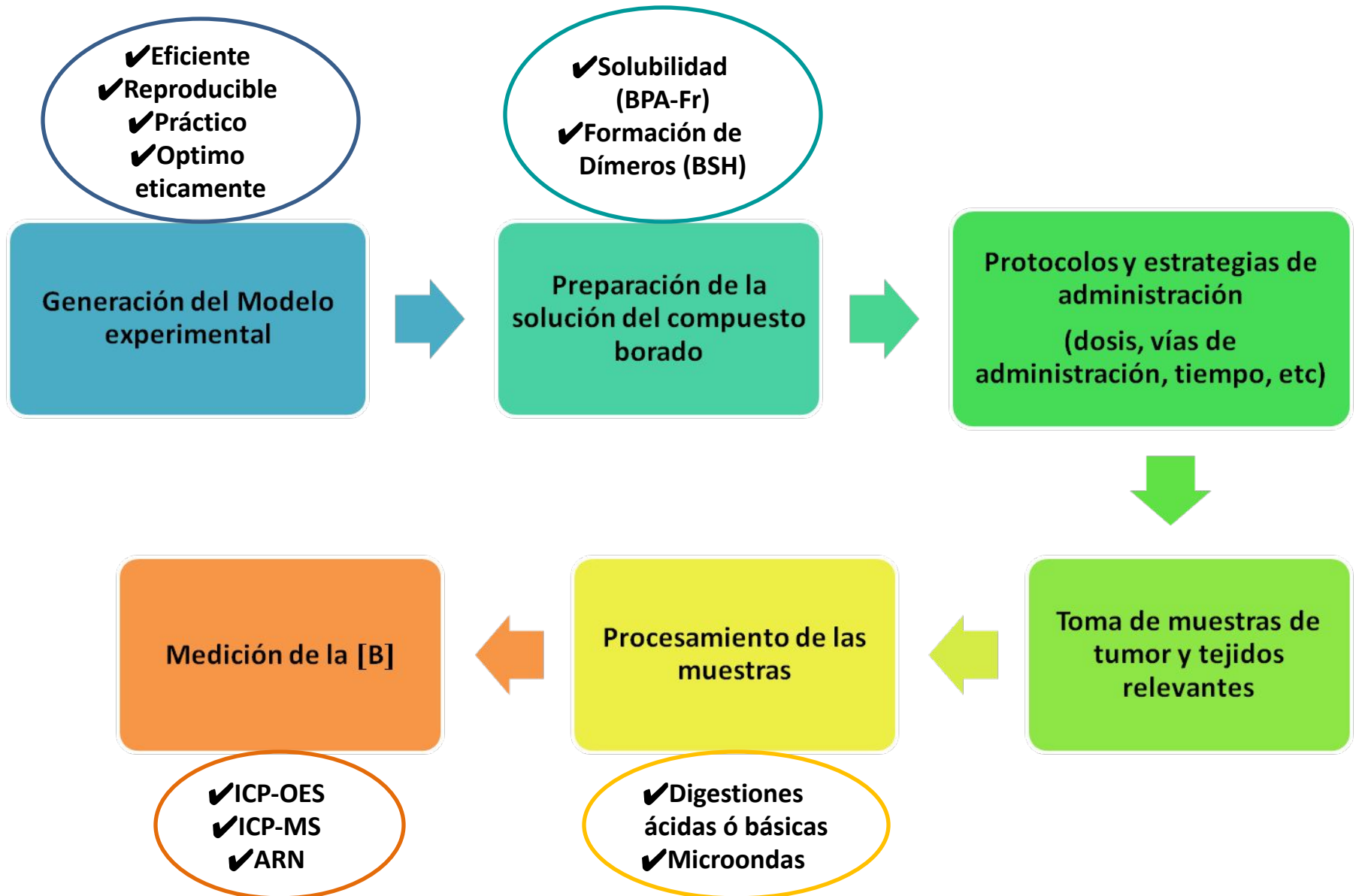


✓ Propiedades fisicoquímicas de las moléculas y de las membranas celulares

✓ Mecanismos de incorporación de los compuestos

Interacción entre la absorción, distribución, fijación, metabolismo y excreción de un compuesto y sus concentraciones en el sitio de acción (Goodman & Gilman, 12ª edición 2012).

Esquema de estudios de Biodistribución de boro *in vivo*



Estudios de Biodistribución de Boro

- **Concentración Absoluta Promedio de ^{10}B :**

Tumor, sangre, tejidos normales y limitantes de dosis

$[^{10}\text{B}]$

- Selección de vías de administración, dosis y tiempos post-administración del compuesto borado; estudios cinéticos, estudios de targeting de boro tumoral

Farmacocinética
Estrategias de optimización de incorporación de B

- **Grado de selectividad:**

Tumor/Sangre (T/S), Tumor/Normal (T/N), Tumor/Tej. Limitante de Dosis (T/TLD)

Selectividad

- **Determinación de la componente boro**

Cálculos Dosimétricos

Componentes de dosis de la terapia BNCT en los tejidos

Componente Boro

Partículas Alfa de 1,47 MeV, rango 9 μm , LET: 196 keV/ μm

Partículas de Litio de 0,84 MeV, rango 5 μm , LET: 162 keV/ μm

Dosis de Fondo

Componente gamma de la fuente de neutrones

Rayos gamma de 2,2 MeV producidos en la reacción $^1\text{H}(n, \gamma) ^2\text{H}$

Protones de alto LET de 590 KeV producidos en la reacción $^{14}\text{N}(n, p) ^{14}\text{C}$

Protones "recoil" mayores a 10 keV generados por neutrones rápidos del haz epitérmico en la reacción $^1\text{H}(n, n^1) p$

Objetivos del diseño de protocolos de administración
para estudios de BNCT:

- ✓ Maximizar la Componente Boro
- ✓ Minimizar la dosis de Fondo

Guía para la selección de protocolos de administración de compuestos borados con posible potencialidad terapéutica para BNCT

- ✓ Sin manifestación de toxicidad
- ✓ Concentración absoluta de boro en tumor ≥ 20 ppm
- ✓ Relación de concentración Tumor/Tejido normal (T/N) ≥ 1
- ✓ Relación de concentración Tumor/Tejido Limitante de Dosis (T/TLD) ≥ 1
- ✓ Relación de concentración Tumor/Sangre (T/S) ≥ 1

Modelos experimentales “in vivo” para estudios de Biodistribución de boro

Metástasis Colorrectal en
hígado de ratas BDIX

BPA
GB-10
BPA+GB-10



Ratas BDIX

Modelo Ectópico de cáncer de
colon en ratas BDIX

BPA
GB-10
AB
AB+Electropración
AB+BPA

Metástasis Colorrectal en
pulmón de ratas BDIX

BPA
GB-10
AB
BPA+GB-10
AB+BPA

Modelos experimentales “in vivo” para estudios de Biodistribución de boro

Cáncer oral en la bolsa
de la mejilla del hámster



Hamsters Sirios

BPA

GB-10

BSH

AB

BPA+GB-10

BPA+BSH

BPA+AB

Talidomida+BPA

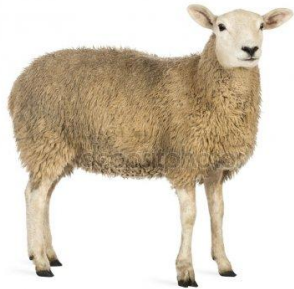
Electroporación + GB-10

Electroporación+AB

Liposomas (MAC/MAC+TAC)

Nanopartículas boradas

Modelos experimentales “in vivo” para estudios de Biodistribución de boro



Pulmón sano de oveja

BPA



Artritis Rematoidea
Conejos

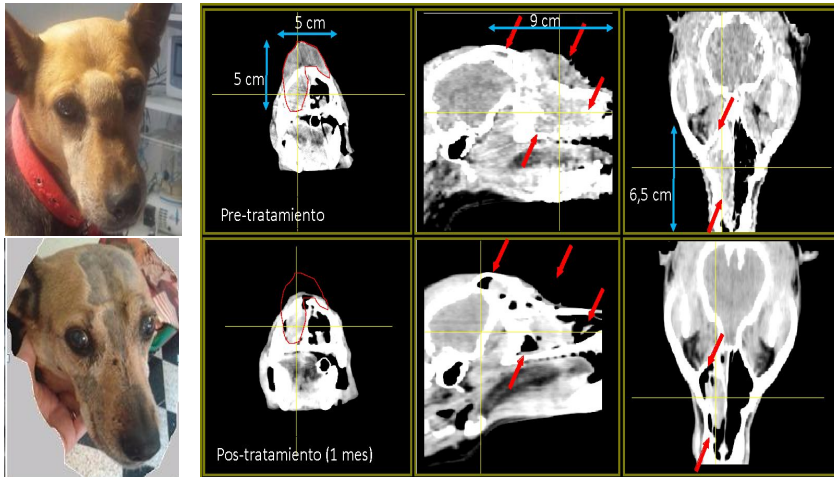
BPA

BPA+GB-10

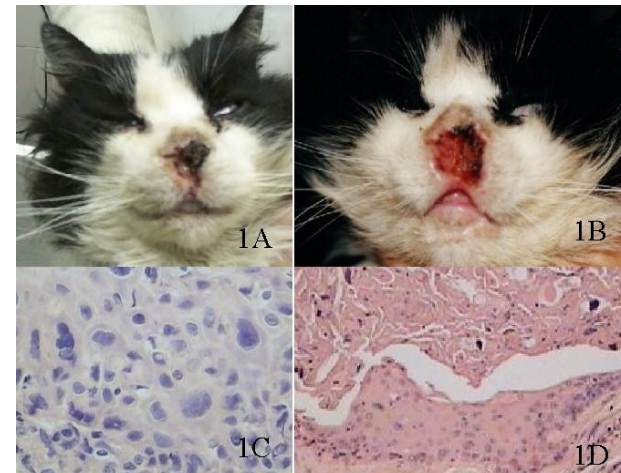
Perfil de mediciones de boro en sangre en pacientes clínicos veterinarios tratados con BNCT

Perros y Gatos con
Tumores de Cabeza y
cuello

BPA



RA-6 (CAB) Carcinoma de células escamosas
Lucy (2015-2016)



RA-1 (CAC) y RA-6 (CAB)
Carcinoma de células escamosas 6 gatos

A) Modelo experimental “in vivo”:
Metástasis colorrectal en hígado de ratas BDIX

Objetivo

**Evaluar mediante estudios de biodistribución
sistemáticos diferentes protocolos de administración
empleando:**

- ✓ BPA, GB-10 y BPA+GB-10
- ✓ Distintas dosis de administración
- ✓ Diversas vías de administración

Materiales y métodos: Modelo experimental de metástasis hepáticas

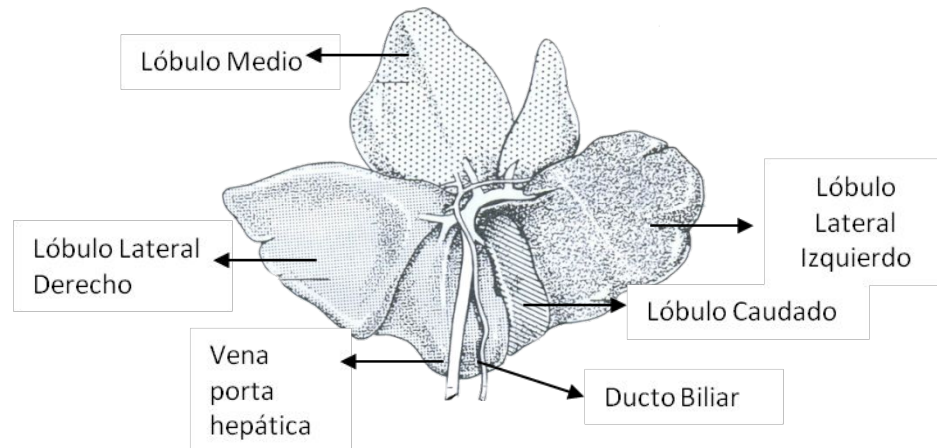
Ratas BDIX

- ✓ Ambos sexos
- ✓ 170-300 gr

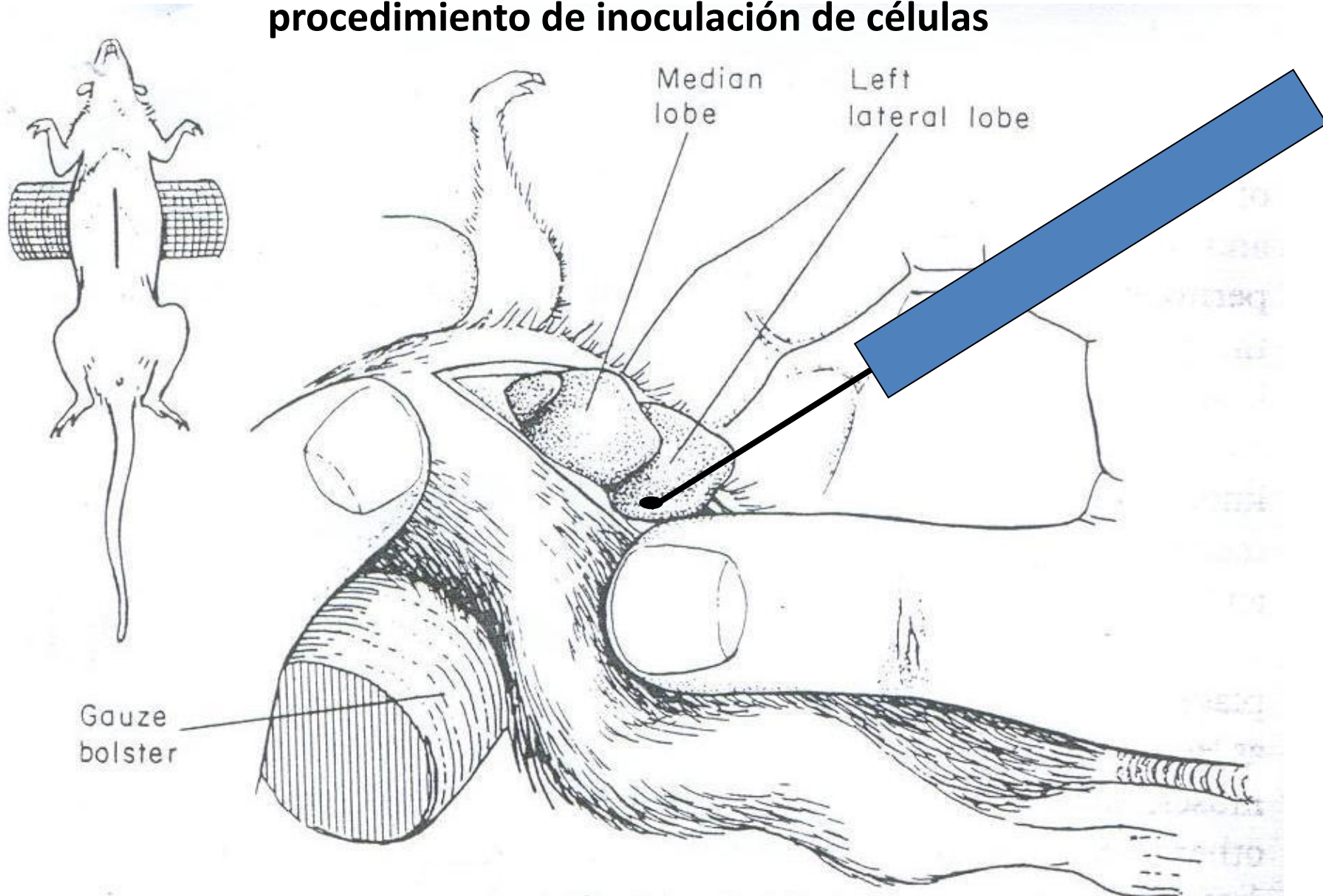


Cultivo células singeneicas de cáncer de colon (DHD/K12/TRb)

- ✓ 5×10^5 /10 μ l F-10/DMEM
- ✓ 3 lóbulos: lateral izquierdo, lateral derecho y medio



Modelo experimental de metástasis hepáticas: procedimiento de inoculación de células



Materiales y métodos: protocolos de administración

Protocolo	BPA				GB-10				Dosis B Total
	[M]	Dosis BPA	Dosis B	Vía admin.	[M]	Dosis BPA	Dosis B	Vía admin.	
1	0,14	300	15,5	ip	---	---	---	---	15,5
2	0,14	300	15,5	iv	---	---	---	---	15,5
3	0,14	600	31,0	ip	---	---	---	---	31,0
4	0,14	600	31,0	ip+iv	---	---	---	---	31,0
5	0,42	600	31,0	iv split	---	---	---	---	31,0
6	0,42	900	46,5	ip	---	---	---	---	46,5
7	0,42	900	46,5	ip+iv	---	---	---	---	46,5
8	---	---	---	---	0,1	78	50,0	iv	50,0
9	0,14	300	15,5	iv	0,1	78	50,0	iv	65,5
10	0,42	600	31,0	ip	0,1	54	34,5	iv	65,5
11	0,42	900	46,5	ip	0,1	31	20,0	iv	65,5

Tabla de protocolos de administración de BPA,GB-10 y BPA+GB-10

([M]: Molaridad de la solución; Dosis: expresada en mg/Kg pc; iv: intravenoso; ip: intraperitoneal).

Materiales y métodos: toma y preparación de las muestras

3 hs post administración
de los compuestos
borados



Toma de muestras de
tejidos



Imágen de la administración iv de los compuestos borados (BPA, GB-10)

- | | | | |
|---|---------------|---|----------|
| ✓ | Sangre | ✓ | Estómago |
| ✓ | Metástasis | ✓ | Bazo |
| ✓ | Hígado Normal | ✓ | Piel |
| ✓ | Riñón | ✓ | Pulmón |
| ✓ | Intestino | ✓ | Lengua |
| | | ✓ | Médula |



Imágen de un nódulo
hepático de cáncer de
colon disecado

Materiales y métodos: medición de [^{10}B] por ICP

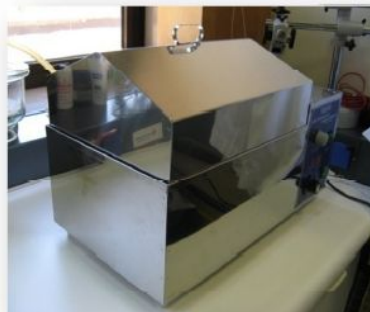
Digestión
 $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$
1h-100°C



Sonicación
90 min



[^{10}B]:
ICP-OES/
ICP-MS



Baño termostático



Sonicador



ICP-OES (CAC)



ICP-MS (CAE)

✓Concentraciones
absolutas promedio [^{10}B]

✓Tumor/Hígado Normal (T/HN)
✓ Tumor/Sangre (T/S)

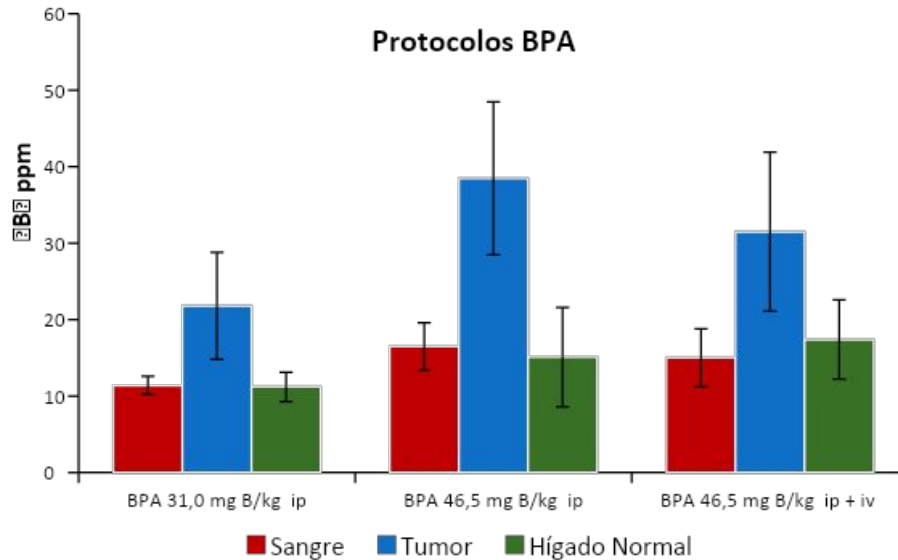
Resultados: protocolos individuales de BPA ó GB-10

Protocolo	1	2	3	4	5	6	7	8
	BPA 15,5 mg ¹⁰ B/Kg ip	BPA 15,5 mg ¹⁰ B/Kg iv	BPA 31,0 mg ¹⁰ B/Kg ip	BPA 31,0 mg ¹⁰ B/Kg ip + iv	BPA 31,0 mg ¹⁰ B/Kg iv split	BPA 46,5 mg ¹⁰ B/Kg ip	BPA 46,5 mg ¹⁰ B/Kg ip + iv	GB-10 50,0 mg ¹⁰ B/Kg iv
Sangre	7,0 ± 1,1 (n=5)	6,3 ± 1,0 (n=6)	11,4 ± 1,2 (n=5)	11,0 ± 2,6 (n=5)	9,8 ± 1,8 (n=6)	16,5 ± 3,1 (n=10)	15,0 ± 3,8 (n=8)	15,8 ± 2,9 (n=5)
Tumor	13,6 ± 3,1 (n=23)	10,2 ± 1,6 (n=16)	21,8 ± 7,0 (n=12)	18,3 ± 8,3 (n=19)	15,5 ± 2,7 (n=14)	38,5 ± 10,0 (n=15)	31,5 ± 10,4 (n=25)	7,1 ± 1,5 (n=15)
Hígado Normal	10,7 ± 7,1 (n=6)	6,2 ± 1,4 (n=6)	11,2 ± 1,9 (n=5)	13,6 ± 4,8 (n=5)	10,0 ± 3,1 (n=6)	15,1 ± 6,5 (n=10)	17,4 ± 5,2 (n=8)	4,8 ± 1,3 (n=5)
Riñón	23,6 ± 5,3 (n=6)	25,3 ± 4,6 (n=6)	45,1 ± 10,3 (n=5)	80,9 ± 27,0 (n=5)	35,5 ± 9,0 (n=6)	69,0 ± 32,1 (n=10)	91,1 ± 22,3 (n=8)	19,1 ± 4,2 (n=5)
Intestino	4,8 (n=1)		14,2 ± 1,9 (n=3)	12,5 (n=2)	11,9 ± 2,8 (n=5)	15,1 ± 8,2 (n=10)	20,7 ± 5,1 (n=7)	5,0 ± 2,3 (n=5)
Estómago	5,0 (n=1)		13,7 ± 1,5 (n=3)	13,0 (n=2)	10,9 ± 2,0 (n=5)	18,7 ± 11,0 (n=10)	24,2 ± 10,3 (n=8)	5,6 ± 0,9 (n=5)
Bazo	10,8 ± 2,6 (n=5)	9,1 ± 2,2 (n=6)	17,6 ± 2,9 (n=5)	16,1 ± 7,6 (n=5)	10,4 ± 2,0 (n=5)	20,1 ± 8,6 (n=10)	26,0 ± 6,1 (n=7)	8,7 ± 1,8 (n=5)
Pulmón	5,8 ± 1,9 (n=5)	6,3 ± 1,6 (n=6)	10,3 ± 1,6 (n=5)	9,1 ± 5,1 (n=5)	7,0 ± 2,5 (n=4)	12,2 ± 7,2 (n=9)	15,6 ± 5,4 (n=8)	10,3 ± 2,4 (n=5)
Piel	7,2 ± 1,9 (n=5)	10,3 (n=2)	21,6 ± 15,3 (n=5)	16,6 ± 10,9 (n=4)	7,5 ± 2,1 (n=4)	15,8 ± 9,8 (n=9)	15,7 ± 5,2 (n=6)	15,4 ± 6,5 (n=4)
Lengua	9,4 ± 2,8 (n=5)	8,5 ± 1,9 (n=6)	14,7 ± 2,5 (n=5)	14,8 ± 6,7 (n=5)	11,2 ± 2,2 (n=5)	17,8 ± 10,8 (n=9)	19,6 ± 8,3 (n=8)	7,0 ± 1,6 (n=5)
Medula	3,3 ± 0,8 (n=5)	2,3 ± 0,9 (n=3)	8,0 ± 5,8 (n=4)	8,2 ± 6,4 (n=4)	2,0 ± 0,7 (n=4)	5,5 ± 2,4 (n=8)	6,4 ± 1,0 (n=5)	0,6 (n=1)
T/S	2,0 ± 0,5 (n=23)	1,6 ± 0,3 (n=16)	2,0 ± 0,7 (n=12)	2,0 ± 0,4 (n=19)	1,5 ± 0,2 (n=14)	1,9 ± 0,4 (n=15)	2,1 ± 0,5 (n=25)	0,5 ± 0,1 (n=15)
T/HN	2,0 ± 0,5 (n=23)	1,6 ± 0,3 (n=16)	1,9 ± 0,7 (n=12)	1,4 ± 0,3 (n=19)	1,9 ± 0,4 (n=14)	2,3 ± 0,9 (n=15)	1,8 ± 0,3 (n=25)	1,5 ± 0,3 (n=15)

Resultados: protocolos combinados de BPA+GB-10

Protocolo	9	10	11
	BPA 15,5 mg ¹⁰ B/Kg iv + GB-10 50,0 mg ¹⁰ B/Kg iv	BPA 31,0 mg ¹⁰ B/Kg ip + GB-10 34,5 mg ¹⁰ B/Kg iv	BPA 46,5 mg ¹⁰ B/Kg ip + GB-10 20,0 mg ¹⁰ B/Kg iv
Sangre	23,9 ± 7,4 (n=6)	27,6 ± 9,7 (n=6)	20,4 ± 8,6 (n=7)
Tumor	19,4 ± 6,6 (n=13)	35,1 ± 9,2 (n=23)	33,2 ± 13,4 (n=17)
Hígado Normal	12,5 ± 3,5 (n=6)	26,1 ± 13,8 (n=6)	25,0 ± 9,8 (n=7)
Riñón	53,7 ± 14,0 (n=6)	126,5 ± 25,0 (n=6)	125,9 ± 38,7 (n=7)
Intestino	12,8 ± 3,9 (n=4)	16,4 ± 7,4 (n=3)	24,8 ± 5,9 (n=7)
Estómago	15,6 ± 3,7 (n=3)	20,7 ± 4,8 (n=3)	27,0 ± 8,4 (n=7)
Bazo	16,5 ± 3,4 (n=6)	31,6 ± 9,9 (n=6)	28,6 ± 9,4 (n=7)
Pulmón	17,1 ± 5,5 (n=5)	28,3 ± 5,6 (n=6)	20,8 ± 5,3 (n=6)
Piel	25,8 ± 16,0 (n=4)	28,7 ± 13,1 (n=6)	31,1 ± 17,0 (n=6)
Lengua	15,7 ± 2,6 (n=6)	27,0 ± 9,6 (n=6)	25,3 ± 8,8 (n=7)
Medula	3,0 ± 1,0 (n=5)	4,7 ± 2,0 (n=5)	6,6 ± 3,1 (n=4)
T/S	0,9 ± 0,4 (n=13)	1,3 ± 0,3 (n=23)	1,6 ± 0,9 (n=17)
T/HN	1,7 ± 0,8 (n=13)	1,4 ± 0,5 (n=23)	1,4 ± 0,2 (n=17)

Resultados

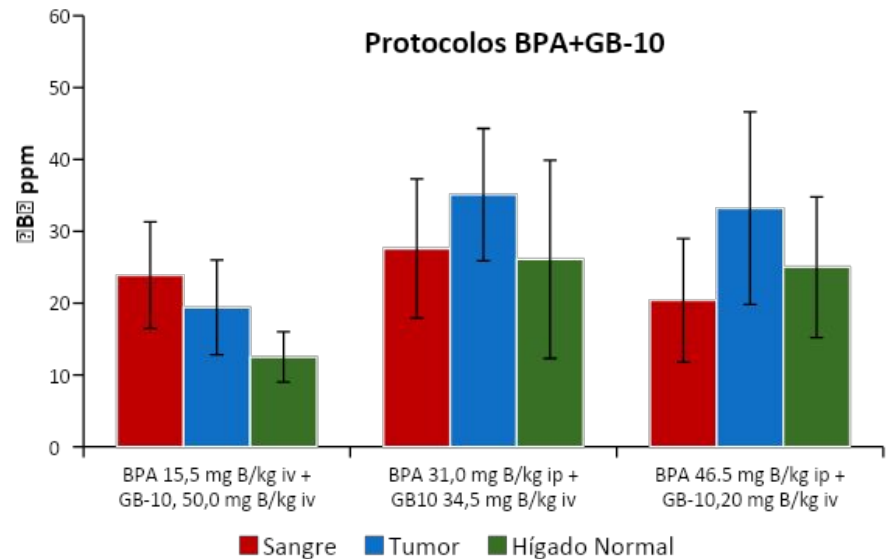


✓ Ninguno de los 11 protocolos ensayados presentó toxicidad

✓ 6 de 11 protocolos demostraron ser potencialmente útiles para estudios de BNCT

✓ Protección de los riñones durante la irradiación

✓ Lavado de la cavidad peritoneal previo a la irradiación



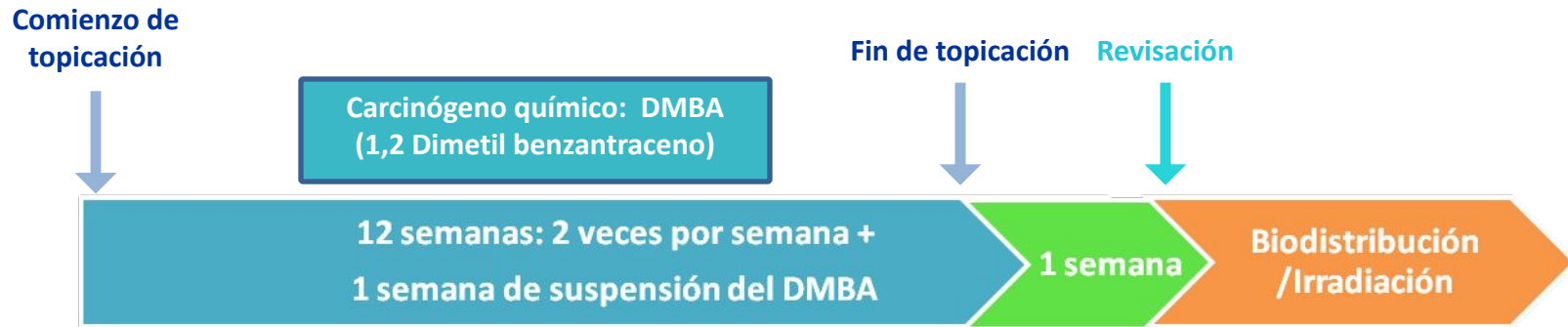
B) Modelo experimental “in vivo”:
Cáncer oral en la bolsa de la mejilla del hámster

Objetivo

**Estudiar la cinética del targeting de boro en CCE del modelo
de cáncer oral en hámster**

✓ BSH

Materiales y métodos: modelo experimental “in vivo” de cáncer oral en la bolsa de la mejilla del hámster



Bolsa de la mejilla del hamster (evertida) sin cancerizar



Topicación con el carcinógeno DMBA 0,5% (en aceite mineral)

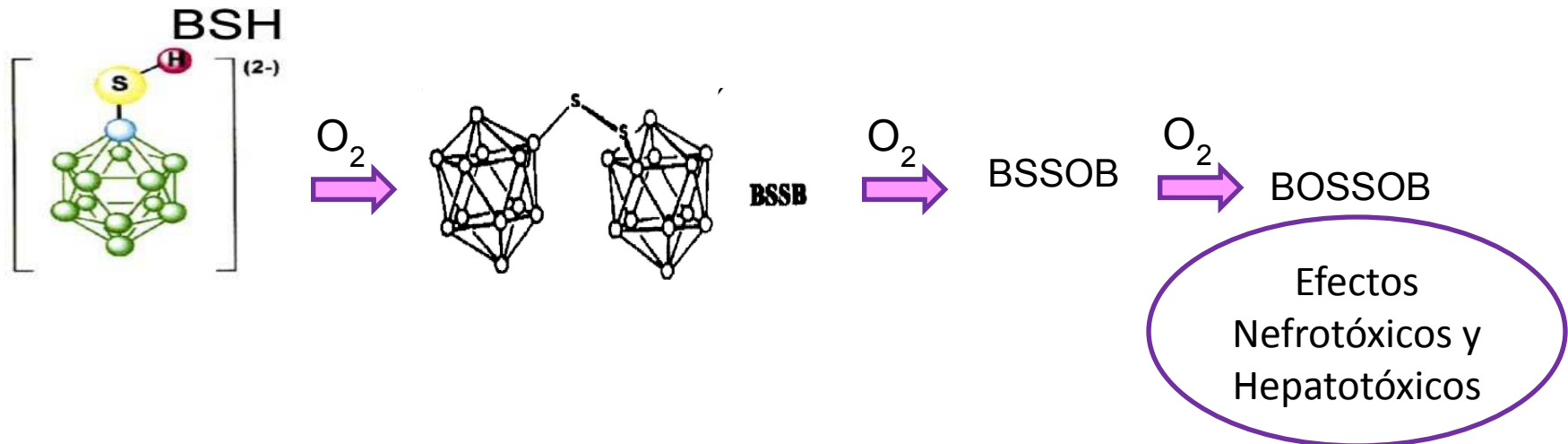


Bolsa evertida con tumor exofítico

BSH : preparación de la solución



Preparación de la solución de BSH en condiciones anóxicas en bolsa de anaerobiosis



✓ Administración de BSH y toma de muestras



Dosis de BSH: **88 mg BSH/Kg**

Dosis ^{10}B : **50 mg ^{10}B /Kg**

Administración : **intravenosa (iv)**

Tiempos Post-administración:

3 hs 4 hs 5 hs 6 hs 7 hs 8 hs 9 hs 10 hs 12hs

Tejidos:

Sangre

Tumor

Bolsa normal

Tejido precanceroso

Paladar

Carrillo

Parótida

Médula

Piel

Lengua

Hígado

Riñón

Cerebro

Pulmón

Bazo

Table 1 Boron concentration (mean $\pm$ standard deviation) (ppm) in blood and tissue samples at different times post-administration as indicated; *n* denotes number of animals or tumors

BSH 50 mg ¹⁰ B/kg i.v.									
	Time post-administration								
	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h	12 h
Blood	62.5 $\pm$ 24.8 (<i>n</i> = 5)	60.8 $\pm$ 17.0 (<i>n</i> = 5)	37.1 $\pm$ 5.4 (<i>n</i> = 5)	82.6 $\pm$ 15.5 (<i>n</i> = 6)	23.4 $\pm$ 9.3 (<i>n</i> = 5)	56.3 $\pm$ 19.0 (<i>n</i> = 4)	31.1 $\pm$ 10.5 (<i>n</i> = 5)	66.7 $\pm$ 10.1 (<i>n</i> = 3)	14.4 $\pm$ 9.0 (<i>n</i> = 5)
Tumor	30.1 $\pm$ 15.0 (<i>n</i> = 19)	26.0 $\pm$ 8.6 (<i>n</i> = 33)	24.3 $\pm$ 9.3 (<i>n</i> = 17)	34.2 $\pm$ 7.1 (<i>n</i> = 18)	23.7 $\pm$ 14.0 (<i>n</i> = 15)	28.3 $\pm$ 6.4 (<i>n</i> = 13)	24.1 $\pm$ 7.9 (<i>n</i> = 27)	34.7 $\pm$ 7.2 (<i>n</i> = 7)	9.2 $\pm$ 2.4 (<i>n</i> = 19)
Normal tissues	27.2 $\pm$ 11.2 (<i>n</i> = 5)	21.4 $\pm$ 6.9 (<i>n</i> = 5)	21.3 $\pm$ 6.4 (<i>n</i> = 5)	30.9 $\pm$ 6.4 (<i>n</i> = 5)	17.1 $\pm$ 10.1 (<i>n</i> = 5)	21.7 $\pm$ 4.6 (<i>n</i> = 4)	17.5 $\pm$ 5.9 (<i>n</i> = 5)	27.2 $\pm$ 3.2 (<i>n</i> = 3)	5.3 $\pm$ 2.4 (<i>n</i> = 5)
Premalignant tissue	34.7 $\pm$ 12.4 (<i>n</i> = 5)	30.4 $\pm$ 8.5 (<i>n</i> = 5)	26.5 $\pm$ 8.3 (<i>n</i> = 5)	39.5 $\pm$ 10.8 (<i>n</i> = 5)	18.9 $\pm$ 10.5 (<i>n</i> = 5)	25.1 $\pm$ 7.2 (<i>n</i> = 4)	21.4 $\pm$ 7.7 (<i>n</i> = 5)	29.9 $\pm$ 2.9 (<i>n</i> = 3)	5.9 $\pm$ 2.7 (<i>n</i> = 5)
Cheek mucosa	23.7 $\pm$ 12.3 (<i>n</i> = 5)	21.4 $\pm$ 9.4 (<i>n</i> = 5)	16.8 $\pm$ 5.7 (<i>n</i> = 5)	37.1 $\pm$ 26.1 (<i>n</i> = 5)	13.7 $\pm$ 8.4 (<i>n</i> = 5)	16.3 $\pm$ 5.1 (<i>n</i> = 4)	22.3 $\pm$ 2.4 (<i>n</i> = 5)	19.5 $\pm$ 5.0 (<i>n</i> = 3)	4.2 $\pm$ 1.8 (<i>n</i> = 5)
Palate mucosa	40.2 $\pm$ 18.4 (<i>n</i> = 4)	33.2 $\pm$ 12.2 (<i>n</i> = 5)	24.3 $\pm$ 5.5 (<i>n</i> = 5)	49.4 $\pm$ 8.6 (<i>n</i> = 3)	18.0 $\pm$ 9.0 (<i>n</i> = 5)	22.1 $\pm$ 5.7 (<i>n</i> = 4)	28.2 $\pm$ 5.8 (<i>n</i> = 5)	44.1 $\pm$ 15.4 (<i>n</i> = 3)	8.4 $\pm$ 2.4 (<i>n</i> = 5)
Parotid gland	11.3 $\pm$ 5.1 (<i>n</i> = 5)	19.1 $\pm$ 17.8 (<i>n</i> = 5)	10.8 $\pm$ 3.6 (<i>n</i> = 5)	21.9 $\pm$ 11.6 (<i>n</i> = 4)	8.6 $\pm$ 3.3 (<i>n</i> = 4)	10.0 $\pm$ 3.9 (<i>n</i> = 3)	7.9 $\pm$ 1.6 (<i>n</i> = 5)	10.6 $\pm$ 0.8 (<i>n</i> = 3)	2.6 $\pm$ 0.9 (<i>n</i> = 5)
Tongue	29.0 $\pm$ 15.1 (<i>n</i> = 4)	19.4 $\pm$ 11.9 (<i>n</i> = 5)	20.4 $\pm$ 4.9 (<i>n</i> = 5)	33.2 $\pm$ 6.0 (<i>n</i> = 5)	17.6 $\pm$ 11.0 (<i>n</i> = 5)	21.3 $\pm$ 6.2 (<i>n</i> = 4)	15.7 $\pm$ 8.6 (<i>n</i> = 5)	21.0 $\pm$ 2.8 (<i>n</i> = 3)	4.9 $\pm$ 1.4 (<i>n</i> = 5)
Liver	143.1 $\pm$ 80.2 (<i>n</i> = 5)	171.3 $\pm$ 76.7 (<i>n</i> = 5)	94.5 $\pm$ 31.2 (<i>n</i> = 5)	214.1 $\pm$ 86.4 (<i>n</i> = 5)	51.1 $\pm$ 33.8 (<i>n</i> = 5)	77.5 $\pm$ 25.1 (<i>n</i> = 4)	76.8 $\pm$ 36.0 (<i>n</i> = 5)	93.3 $\pm$ 38.0 (<i>n</i> = 3)	13.5 $\pm$ 6.3 (<i>n</i> = 5)
Spleen	23.8 $\pm$ 10.5 (<i>n</i> = 5)	20.3 $\pm$ 10.9 (<i>n</i> = 4)	18.5 $\pm$ 8.4 (<i>n</i> = 5)	28.4 $\pm$ 6.0 (<i>n</i> = 4)	11.6 $\pm$ 5.1 (<i>n</i> = 5)	22.8 $\pm$ 3.2 (<i>n</i> = 4)	14.4 $\pm$ 5.3 (<i>n</i> = 5)	46.6 $\pm$ 2.5 (<i>n</i> = 3)	4.1 $\pm$ 0.9 (<i>n</i> = 5)
Kidney	91.0 $\pm$ 36.8 (<i>n</i> = 5)	100.7 $\pm$ 30.6 (<i>n</i> = 4)	112.8 $\pm$ 61.6 (<i>n</i> = 5)	93.7 $\pm$ 35.4 (<i>n</i> = 5)	43.7 $\pm$ 25.1 (<i>n</i> = 5)	43.7 $\pm$ 12.5 (<i>n</i> = 4)	65.0 $\pm$ 24.9 (<i>n</i> = 5)	84.5 $\pm$ 22.9 (<i>n</i> = 3)	18.6 $\pm$ 6.4 (<i>n</i> = 5)
Lung	60.9 $\pm$ 28.4 (<i>n</i> = 4)	26.8 $\pm$ 16.4 (<i>n</i> = 4)	25.5 $\pm$ 1.2 (<i>n</i> = 5)	40.7 $\pm$ 18.3 (<i>n</i> = 4)	9.2 $\pm$ 3.5 (<i>n</i> = 4)	26.6 $\pm$ 6.5 (<i>n</i> = 4)	28.1 $\pm$ 11.0 (<i>n</i> = 5)	32.6 $\pm$ 9.5 (<i>n</i> = 3)	8.4 $\pm$ 2.1 (<i>n</i> = 5)
Skin	32.8 $\pm$ 7.1 (<i>n</i> = 5)	18.6 $\pm$ 8.6 (<i>n</i> = 5)	25.9 $\pm$ 9.1 (<i>n</i> = 5)	26.2 $\pm$ 15.3 (<i>n</i> = 5)	22.6 $\pm$ 16.1 (<i>n</i> = 5)	24.4 $\pm$ 5.3 (<i>n</i> = 4)	17.4 $\pm$ 5.0 (<i>n</i> = 5)	23.8 $\pm$ 4.7 (<i>n</i> = 3)	5.7 $\pm$ 3.4 (<i>n</i> = 5)
Spinal cord marrow	1.1 $\pm$ 0.8 (<i>n</i> = 4)	5.6 $\pm$ 3.9 (<i>n</i> = 5)	4.1 $\pm$ 1.8 (<i>n</i> = 5)	5.5 $\pm$ 2.4 (<i>n</i> = 5)	2.2 $\pm$ 1.6 (<i>n</i> = 5)	1.7 $\pm$ 0.4 (<i>n</i> = 4)	4.4 $\pm$ 1.2 (<i>n</i> = 5)	2.0 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> = 3)	0.7 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> = 5)
Brain	1.3 $\pm$ 1.0 (<i>n</i> = 4)	2.2 $\pm$ 1.8 (<i>n</i> = 4)	1.4 $\pm$ 0.5 (<i>n</i> = 5)	4.5 $\pm$ 2.2 (<i>n</i> = 5)	0.9 $\pm$ 0.4 (<i>n</i> = 4)	1.3 $\pm$ 0.5 (<i>n</i> = 4)	2.3 $\pm$ 0.8 (<i>n</i> = 5)	0.9 $\pm$ 0.4 (<i>n</i> = 3)	0.5 $\pm$ 0.2 (<i>n</i> = 5)

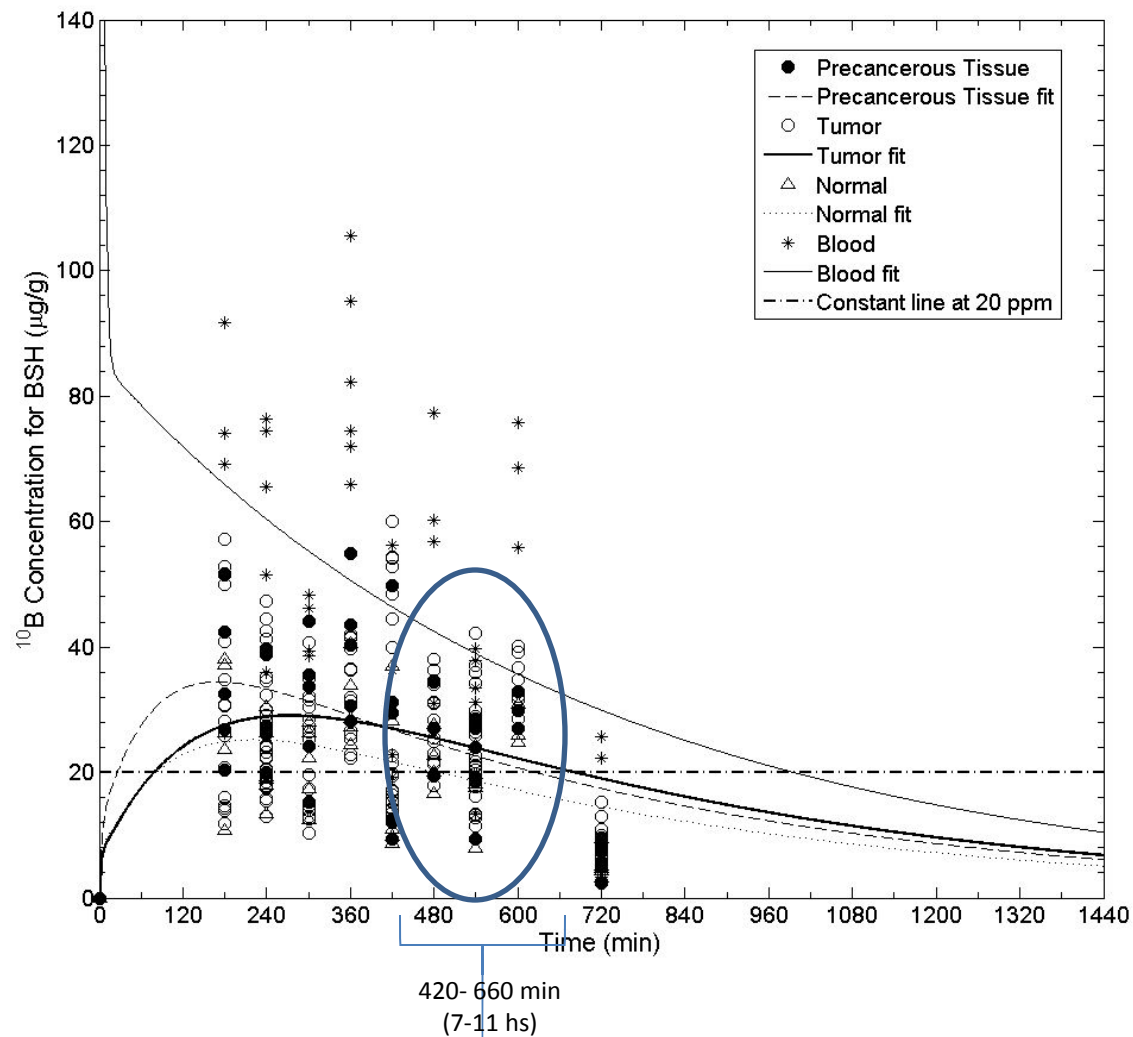


Fig. 2 Mean ^{10}B concentration values $\pm$ standard deviation for the different time-points and the corresponding fits to a two-compartment model for blood, normal, precancerous and tumor tissues. Fitting was based on all available individual data points. Boron concentration profiles are plotted as a function of time after BSH administration. A constant line is drawn at 20 ppm to indicate the minimum tumor boron concentration value considered to be therapeutically useful

C) Modelo experimental “in vivo”:
Cáncer oral en la bolsa de la mejilla del hámster

Objetivo

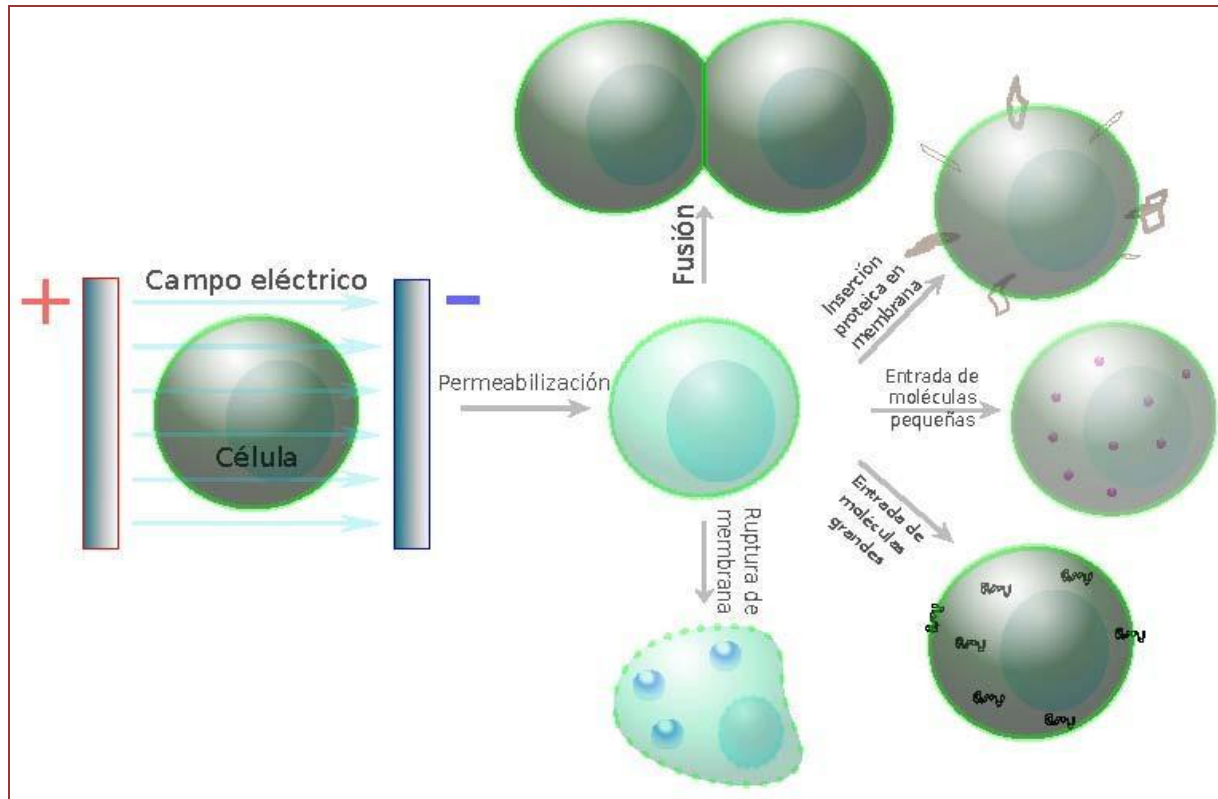
**Estudiar la factibilidad de mejorar el targeting de boro en
CCE del modelo de cáncer oral en hámster**

✓ GB-10

✓ Electroporación (EP)

✓ EP en distintos momentos post administración de GB-10

Materiales y métodos: Electroporación (EP)

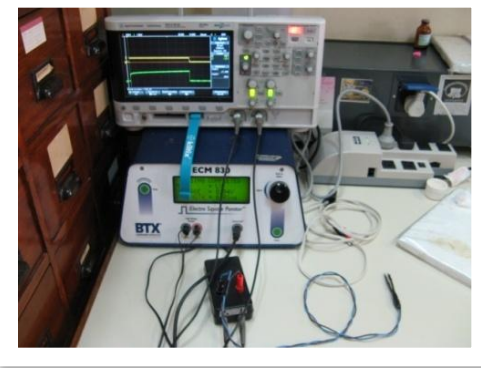


La EP induce la apertura de poros en las células tumorales permitiendo el ingreso del fármaco o del compuesto previamente administrado.

Materiales y métodos: Administración de GB-10 y aplicación de EP

Dosis ^{10}B : 50 mg ^{10}B /Kg

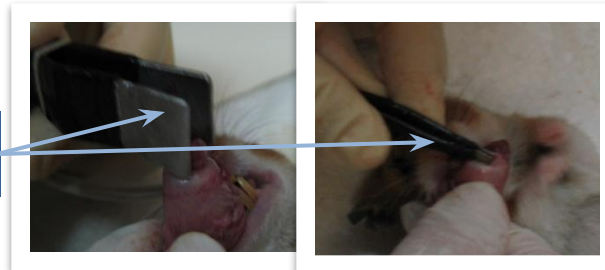
Administración: intravenosa



Condiciones de EP

- ✓ Secuencia de pulsos típica para ECT
(1000 v/cm, 8 pulsos de 100 μs)
- ✓ Corriente eléctrica y tensión
(sonda de 1 ohm y osciloscopio digital)
- ✓ Electrodo de placas paralelas

Electrodos de tipo
placas paralelas



Estudios Previos:

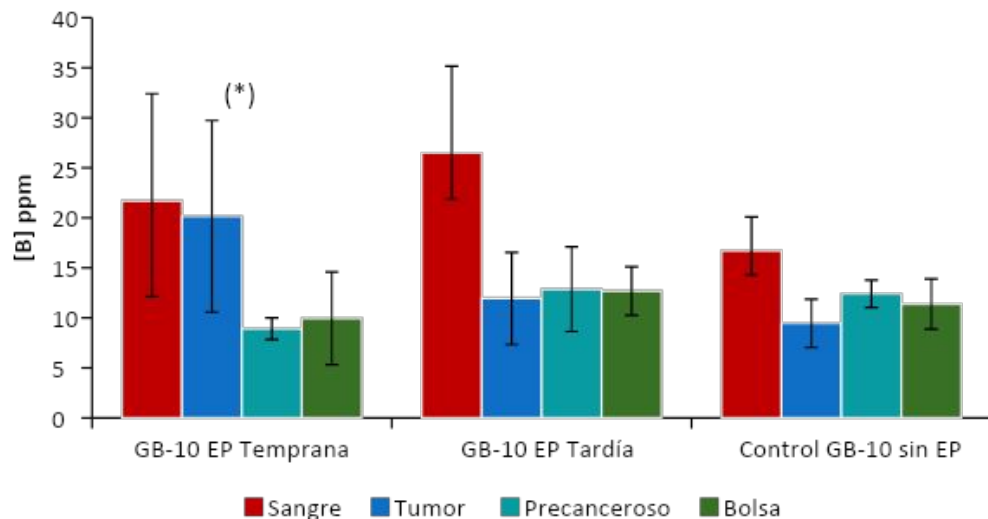
Determinación de un Índice de Electroporación Efectiva (IEPE)

Materiales y métodos: Protocolos Ensayados de Biodistribución con GB-10+EP



EP: Electroporación; TM: Toma de Muestra

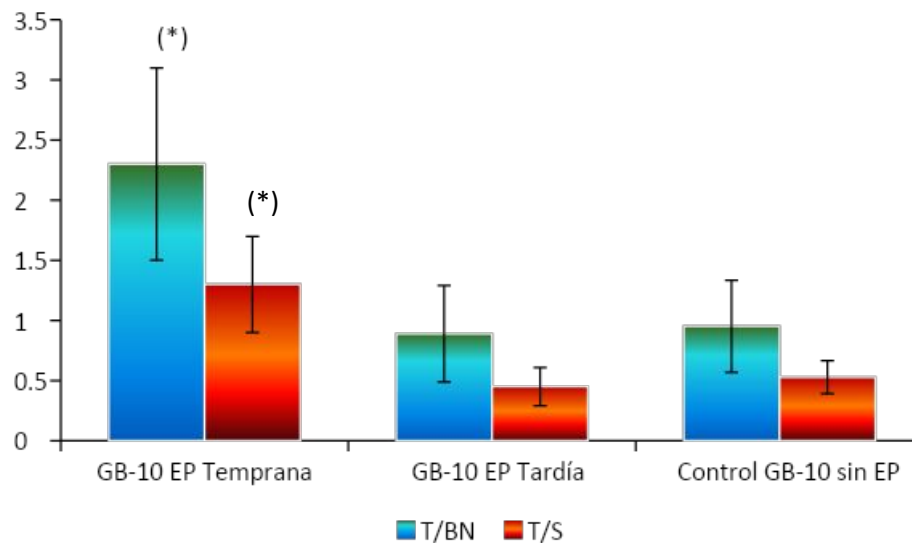
Resultados



✓ Ninguno de los protocolos ensayados presentó toxicidad

✓ Con la técnica de ICP se observó un aumento estadísticamente significativo en la captación de B en tumor en el protocolo GB-10+EP temprana

✓ Las relaciones de concentración de boro T/BN y T/S fueron significativamente mayores para el protocolo GB-10+EP Temprana vs GB-10 sin EP



Discusión y Conclusión general

- I. **Ningún modelo experimental reproduce exactamente las características del cáncer humano**
 - ✓ El uso de modelos experimentales es el preludio inevitable para entender el desarrollo de neoplasias y ensayar la eficacia de nuevos enfoques terapéuticos

- II. **Los estudios de biodistribución de boro son esenciales para:**
 - ✓ **diseñar y planificar protocolos pre-clínicos y,**
 - ✓ **en última instancia, clínicos.**

- ✓ En particular, se pueden **identificar compuestos de boro potencialmente útiles y protocolos de administración y así elegir las condiciones óptimas** después de la administración del portador de boro para realizar la irradiación de neutrones, tratando de **maximizar los niveles de boro tumoral mientras se minimizan los niveles de boro en tejidos sanos y sangre**

Discusión y Conclusión general

III. La mejora de las **relaciones T/N y T/S** no sólo indica que un agente borado es más selectivo, sino que es considerado un **factor crítico** para **reducir al mínimo el daño al tejido normal o limitante de dosis** y por lo tanto **aumentar la eficacia terapéutica**, minimizando los efectos secundarios **de BNCT**.

IV. **Se sabe** que las implicaciones de los **valores absolutos de contenido de boro**, en términos de **efecto biológico**:

- ✓ sólo pueden determinarse con **estudios radiobiológicos BNCT *in vivo***.
- ✓ Por lo tanto, conseguir **protocolos de compuestos borados que no presenten radiotoxicidad** como efecto secundario a los ensayos de eficacia terapéutica de BNCT, es una de las **ventajas de la terapia para aumentar el control tumoral y evitar posibles recidivas y efectos tóxicos** indeseables

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