

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕЙТРОН-ЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ С ГАДОЛИНИЕМ

А.А. Липенгольц^{1,2,3}, А.М. Арнопольская³, И.Н. Шейно², В.Н. Кулаков²

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

² ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Россия, 123182, Москва, ул. Живописная, 46

³ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Россия, 115409, Москва, Каширское шоссе, 31

Контакты: Алексей Андреевич Липенгольц, lipengolts@mail.ru

Реферат

Нейтрон-захватная терапия (НЗТ) является перспективным методом лечения злокачественных опухолей, в котором используются стабильные изотопы с большим значением поперечного сечения захвата тепловых нейтронов (σ) для обеспечения избирательного поражения опухоли. Изотоп бора ^{10}B ($\sigma = 3880$ барн) является наиболее известным и используемым в НЗТ нуклидом. Изотоп гадолиния ^{157}Gd имеет еще большее значение сечения захвата тепловых нейтронов ($\sigma = 254\,000$ барн), чем ^{10}B , однако вторичное излучение, испускаемое в результате захвата тепловых нейтронов данным изотопом, менее эффективно поглощается опухолевыми тканями, чем для ^{10}B .

Целью данной работы являлось исследование терапевтической эффективности гадолиниевого нейтрон-захватной терапии (ГНЗТ) для лечения спонтанных опухолей.

Исследование было проведено на 13 собаках с диагностированной спонтанной меланомой ротовой полости. В качестве гадолиний-содержащего препарата использовалось контрастное лекарственное средство для МРТ Дипентаст®. Препарат вводился интратуморально непосредственно перед облучением нейтронами в дозировке 10 мг гадолиния на кубический сантиметр опухоли. Облучение проводилось пучком тепловых нейтронов диаметром 3–6 см с плотностью потока 7×10^8 н/см²с в течение 70 мин.

В результате проведенной терапии полная регрессия первичного опухолевого очага была достигнута у 46 % животных. Безрецидивный период для них составил $106,0 \pm 7,5$ сут у 66,7 % животных и более 150 сут у 16,7 %.

Ключевые слова: нейтрон-захватная терапия, гадолиний, спонтанные опухоли, собаки, меланома

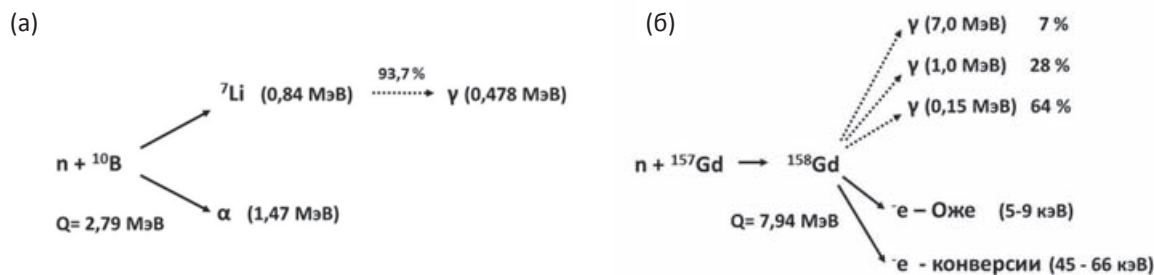
Для цитирования: Липенгольц А.А., Арнопольская А.М., Шейно И.Н., Кулаков В.Н. Экспериментальное подтверждение противоопухолевой эффективности нейтрон-захватной терапии с гадолинием. Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2020;3(2):63-70.

DOI: 10.37174/2587-7593-2020-3-2-63-70

Введение

Базовый принцип нейтрон-захватной терапии (НЗТ), сформулированный Гордоном Лочером еще в 1936 г., заключается в способности тепловых нейтронов взаимодействовать с ядрами определенных элементов с существенно большей вероятностью, чем с элементами, составля-

ющими биологические ткани [1]. Данная вероятность описывается величиной, называемой поперечным сечением захвата тепловых нейтронов и измеряемой в барнах. Значения сечения захвата тепловых нейтронов ядрами таких изотопов как ^{16}O , ^{12}C , ^{14}N , ^1H составляют 0,00019, 0,0035, 0,075 и 0,332 барн соответственно. Наиболее известным и, к настоящему моменту, наи-

Рис. 1. Ядерные реакции нейтронного захвата на ядрах ${}^{10}\text{B}$ (а) и ${}^{157}\text{Gd}$ (б)Fig. 1. Nuclear neutron capture reactions at nuclei ${}^{10}\text{B}$ (а) и ${}^{157}\text{Gd}$ (б)

более успешным является использование для НЗТ изотопа ${}^{10}\text{B}$, имеющего значение сечения захвата тепловых нейтронов 3880 барн, что в более чем 10^4 раз больше, чем для элементов биологической ткани. НЗТ с препаратами бора получила название борной нейтрон-захватной терапии (БНЗТ). Для многих специалистов термины НЗТ и БНЗТ являются взаимозаменяемыми синонимами. Однако, справедливости ради, необходимо отметить, что изотоп ${}^{10}\text{B}$ не является единственным стабильным изотопом, обладающим большим значением сечения захвата тепловых нейтронов. Такие изотопы, как ${}^6\text{Li}$, ${}^{113}\text{Cd}$, ${}^{149}\text{Sm}$ также имеют значения сечения захвата тепловых нейтронов свыше 1000 барн.

Рекордсменом по значению величины сечения поглощения нейтронов среди стабильных изотопов является изотоп ${}^{157}\text{Gd}$ ($\sigma = 254\,000$ барн). По этой причине желание использовать данный нуклид в НЗТ является вполне логичным и обоснованным. Однако в отличие от ${}^{10}\text{B}$, для которого после захвата им теплового нейтрона происходит ядерная реакция ${}^{10}\text{B}(n, \alpha){}^7\text{Li}$ (рис. 1а) с испусканием короткопробежного излучения, 93,7 % энергии которого поглощается не далее 10 мкм от места протекания ядерной реакции, для ${}^{157}\text{Gd}$ большая часть испускаемого после захвата теплового нейтрона излучения (рис. 1б) представляет собой высокоэнергетическое гамма-излучение, слабо поглощающееся тканеэквивалентной средой. По этой причине перспективность

гадолиния для НЗТ долгое время была под вопросом.

Одним из первых экспериментальных подтверждений эффективности гадолиниевой НЗТ (ГНЗТ) является исследование, проведенное под руководством В.Ф. Хохлова в 1993 г. [2]. Мыши с подкожно трансплантированной саркомой Йенсена были облучены в течении 30 мин потоком тепловых нейтронов с плотностью потока 3×10^8 н/см²с. Мышам опытной группы непосредственно перед облучением интратуморально был введено гадолиниевое контрастное средство Магневист в дозировке 13,75 мг на кубический сантиметр объема опухоли. В результате проведенной ГНЗТ у 82 % животных была зафиксирована полная регрессия опухоли, тогда как в группе, только облученной нейтронами без введения препарата Магневист, данный показатель был равен лишь 22 %. На основании полученных результатов было принято решение о проведении исследования терапевтической эффективности ГНЗТ для лечения спонтанных опухолей у собак.

Целью данной работы являлось исследование терапевтической эффективности и оценка перспективности ГНЗТ для лечения спонтанных опухолей. Результаты данного исследования частично уже были опубликованы ранее [3]. В данной работе приводится более развернутое описание и анализ результатов исследования.

Материал и методы

Исследование было проведено на 13 собаках различных пород с диагностированной спонтанной меланомой ротовой полости. 23 % собак (3 из 13) — с веретеноклеточной меланомой, остальные — с эпителиоидноклеточной. Возраст собак в исследовании находился в диапазоне от 9 до 13 лет. Большая часть собак (12 из 13) имела IIВ стадию развития меланомы. У одной собаки была определена IIIА стадия меланомы, и перед проведением ГНЗТ ей была проведена лимфаденэктомия регионарных лимфоузлов. Меланома ротовой полости является наиболее часто встречаемым злокачественным новообразованием ротовой полости у собак и составляет от 2 до 9 % от всех случаев злокачественных опухолей у данных животных [4, 5]. Основным методом лечения данной опухоли в ветеринарии является ее хирургическое удаление, однако из-за локализации опухолевого узла в ротовой полости ее абластическое удаление невозможно без нарушения целостности структуры ротовой полости и необратимого нарушения жизненно важных физиологических функций, таких как питание и дыхание. Хирургическое удаление меланомы ротовой полости у собак является паллиативной мерой и не оказывает значимого влияния на результат лечения [6]. Лучевая терапия также применяется для лечения меланомы ротовой полости у собак, однако также в качестве паллиативной меры, приводящей к подавлению роста опухоли, но не к ее излечению [7, 8]. Длительность ремиссии в значительной степени зависит от объема опухоли на момент начала проведения терапии: риск рецидива после курса лучевой терапии в 6,4 раза выше для опухолей стадии T_3 , чем для опухолей стадии T_1 [8]. Таким образом, для меланомы ротовой полости у собак стадии IIА–IIIА ни хирургическое удаление, ни лучевая терапия не являются эффективными методами лечения.

В качестве гадолиний-содержащего препарата для проведения ГНЗТ исполь-

зовалось российское контрастное лекарственное средство для МРТ Дипентаст®. Препарат вводился интратуморально непосредственно перед облучением путем обкалывания опухоли в объеме от 10 до 20 мл препарата из расчета не менее 10 мг Gd на кубический сантиметр опухоли. Животные, находящиеся в состоянии общей анестезии, облучались на реакторе ИРТ МИФИ пучком тепловых нейтронов диаметром 3–6 см (в зависимости от размера опухоли) в течение 70 мин. Плотность потока тепловых нейтронов на выходе пучка из канала составляла 7×10^8 н/см²с. Поглощенная доза от быстрых нейтронов (>10 кэВ) и сопутствующего гамма-излучения из нейтронного канала составляли $5,3 \times 10^{-13}$ и $1,5 \times 10^{-13}$ Гр·см²/нейтрон соответственно. После облучения животные получали антибактериальную и ранозаживляющую терапию для устранения побочных эффектов облучения. Соответствующее лечение назначалось индивидуально для каждой собаки в зависимости от имеющихся заболеваний и тяжести их проявления.

Результаты

После облучения у 85,7 % животных отмечались лучевые реакции 2 степени тяжести: аллопеция, влажный эпидермит, обильное слюнотечение. У 14,3 % животных — 4 степень лучевого патоморфоза: некроз слизистой, оголение кости, дефект твердого неба.

За 70 сут наблюдения полная регрессия первичного опухолевого очага наблюдалась у 46 % животных (6 собак из 13) (рис. 2) и частичная регрессия с уменьшением первичного опухолевого узла не менее 50 % — у 54 % животных (7 собак из 13).

Первые признаки регрессии опухолевого узла (уменьшение объема опухоли на 30–50 %) наблюдалось к 10–14 сут, а полная регрессия наступала не ранее 45 сут после облучения.

Рецидив опухолевого роста у животных с полной регрессией первичного опухолевого узла наблюдался у 83 % животных

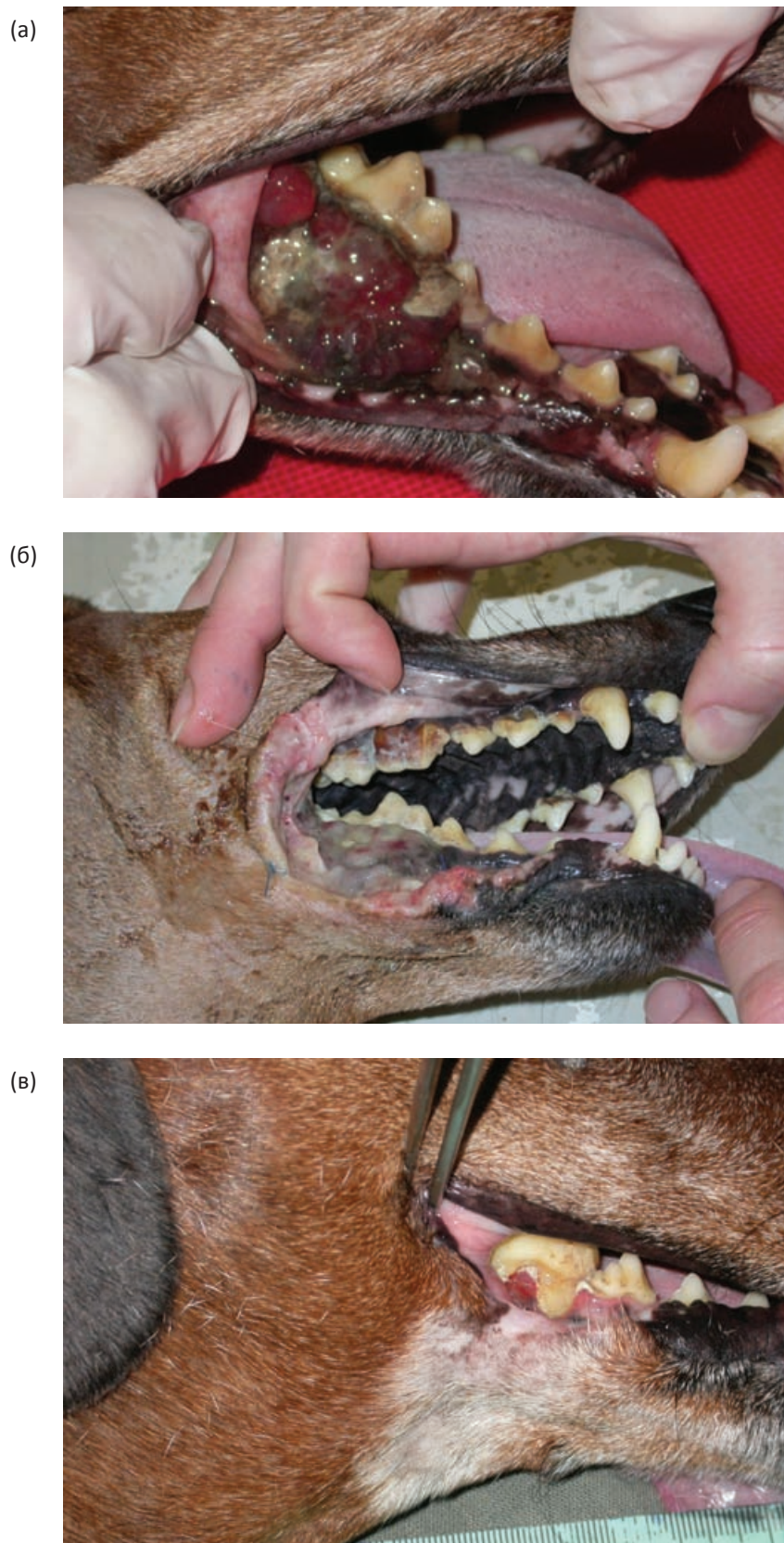


Рис. 2. Собака с меланомой ротовой полости: (а) — на момент проведения ГНЗТ; (б) — 7 сут после ГНЗТ; (в) — 6 мес после ГНЗТ

Fig. 2. The dog with melanoma of the oral cavity: (a) — at the time of GNCT; (б) — 7 days after GNCT; (в) — 6 months after GNCT

(5 из 6). У 66,7 % животных с полной регрессией безрецидивный период составил $106,0 \pm 7,5$ сут, и у 16,7 % — 150 сут. У одной собаки безрецидивный период составил не менее 2 лет. Наблюдение животных осуществлялось либо до гибели/эвтаназии собаки, либо до потери связи с ее владельцем.

Обсуждение

Ранее при исследовании эффективности БНЗТ с препаратом бор-фенилаланин для лечения меланомы ротовой полости у собак [3, 9, 10], было показано, что облучение только пучком тепловых нейтронов на реакторе ИРТ МИФИ приводит к полной регрессии лишь у 20 % животных, при этом рецидив опухоли наблюдался у 100 % животных. Средняя длительность ремиссии опухолевого роста составила 101 ± 29 сут.

Полученные результаты подтверждают принципиальную возможность и перспективность применения гадолиния в НЗТ для лечения спонтанных опухолей. Наличие

радиационно-индуцированных осложнений от умеренных до значительных, а также достаточно скромные, по сравнению с БНЗТ, значение доли полных регрессий и увеличения продолжительности жизни могут быть объяснены неоднородностью распределения гадолиния в опухолевых тканях после интратуморальных инъекций. Локальные высокие концентрации гадолиния (свыше 10 мг/мл), вызывают значительное ослабление потока тепловых нейтронов [10].

Проведенные нами позднее исследования распределения лекарственного контрастного средства Висиптаст (висмутового аналога лекарственного средства Дипентаст®) в мышинной меланоме B16F10 [11] не подтвердили изначальную гипотезу о возможной диффузии контрастных средств в объеме меланомы, а показали, что скорость выведения контрастного средства из места инъекции преобладает над скоростью диффузии в окружающие ткани. Таким образом, объем опухолевых тканей, содержащих контрастное средство после интратуморальной инъекции, является максимальным в первые 2–3 мин, после чего начинает уменьшаться (рис. 3).

В связи с этим становится очевидной значительная неоднородность распределения гадолиния в очаге после интратуморального обкалывания опухоли перед проведением ГНЗТ. Подобная неоднородность поднимает вопрос о механизмах, обеспечивающих противоопухолевый эффект вплоть до ее полной регрессии. Очевидно, что только непосредственное радиационное поражение опухолевых тканей не может являться таким механизмом из-за существенной неоднородности дозного поля в опухоли при проведении ГНЗТ с интратуморальным введением гадолиниевого контрастного средства. Вероятно, в дополнение к непосредственному радиационному повреждению опухолевых клеток добавляются и другие физиологические механизмы, такие как иммунный ответ, нарушение трофики опухоли из-за радиационного повреждения сосудов и др.

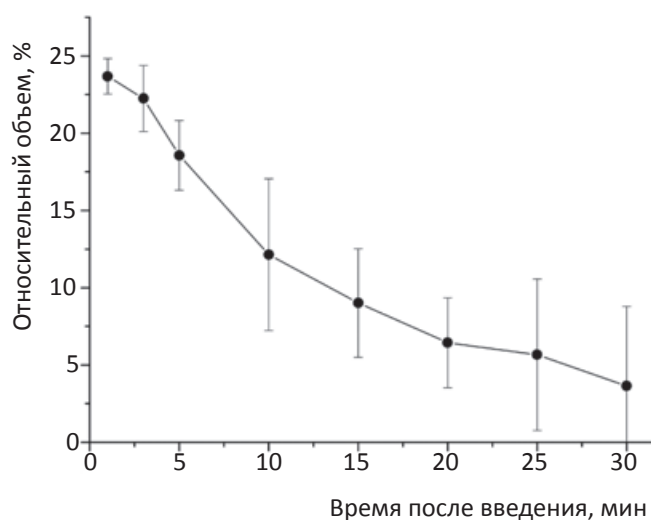


Рис. 3. Зависимость относительного объема опухоли, содержащего контрастное средство после однократной интратуморальной инъекции, от интервала времени после введения

Fig. 3. Time-dependent relative volume of a tumor containing a contrast agent after a single intratumoral injection

Для раскрытия потенциала ГНЗТ необходимы гадолиний-содержащие препараты, способные избирательно накапливаться в опухолевых тканях. Наиболее перспективными для этого, на наш взгляд, являются гадолиний-содержащие наноструктуры. Так, гадолиний-содержащий нанопрепарат AGuIX в настоящее время находится на стадии клинических испытаний в качестве радиосенсибилизирующего препарата для лучевой терапии [12]. Еще более перспективной основой для создания препаратов для ГНЗТ, по нашему мнению, являются наночастицы на основе NaGdF_4 [13] или Gd_2O_3 . Возможность и эффективность последних в ГНЗТ была показана *in vivo* в работе [14] на иммунодефицитных мышах с глиобластомой U87MG.

Несмотря на менее выигрышные свойства вторичного излучения реакции $^{157}\text{Gd}(n,\gamma)^{158}\text{Gd}$ для локализации ионизирующего излучения в опухолевом объеме по сравнению с реакцией $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$, гадолиний, тем не менее, обладает рядом преимуществ перед бором. Распределение гадолиния легко визуализируется при магнитно-резонансной томографии (МРТ), что позволяет оценивать эффективность накопления гадолиниевого лекарственного средства в тканях конкретного пациента штатными диагностическими методами. Гадолиний имеет радиоактивные изотопы, в частности ^{159}Gd с периодом полураспада $T_{1/2} = 18,6$ ч, который может быть использован либо в качестве радиоактивной метки для количественного определения содержания гадолиниевого препарата в тканях пациента методом ОФЭКТ, либо в качестве маркера полученной пациентом дозы после сеанса ГНЗТ. Бор и гадолиний обладают принципиально разными химическими свойствами. Так, для бора до сих пор не известны случаи получения биосовместимых наночастиц, тогда как наночастицы с гадолинием активно синтезируются и исследуются по всему миру, в том числе и наночастицы для биомедицинского применения.

Заключение

Полученная противоопухолевая эффективность ГНЗТ при лечении спонтанной меланомы ротовой полости у собак подтверждает перспективность данной разновидности НЗТ. Сопоставление особенностей проявления противоопухолевого действия ГНЗТ и распределения гадолиния после интратуморального введения гадолиний-содержащего лекарственного средства, определяющим характер распределения поглощенной дозы в опухоли, указывает на сложный многокомпонентный механизм подавления опухоли, включающий не только прямое радиационное поражение опухолевых клеток, но и физиологические механизмы торможения их роста.

Для раскрытия терапевтического потенциала необходимы туморотропные гадолиний-содержащие препараты с системным введением, в качестве которых могут выступать гадолиний-содержащие наноструктуры различных классов (твердотельные наночастицы, полимерные наноструктуры, дендримеры и др.). Гадолиний и бор имеют разные как физические, так и химические свойства, что позволяет расширить спектр препаратов для НЗТ в целом, таким образом, повысив эффективность данной технологии лечения злокачественных новообразований.

Список литературы / References

1. Locher GL. Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons. Am J Roentgenol Radium Ther. 1936;36(1):1-13.
2. Khokhlov VF, Yashkin PN, Silin DI, et al. Neutron capture therapy with gadopentetate dimeglumine: experiments on tumor-bearing rats. Academic Radiology. 1995;2:392-8.
3. Mitin VN, Kulakov VN, Khokhlov VF, et al. Comparison of BNCT and GdNCT efficacy in treatment of canine cancer. Appl Radiat Isot. 2009;67(7-8):S299-S301. DOI: 10.1016/j.apradi-so.2009.03.067.

4. Withrow SJ, Vail D. Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. Elsevier Health Sciences, 2006, 864 p.
 5. Gorlin RJ, Clark JJ, Chaudry AP. The oral pathology of domesticated animals. *Oral Surg.* 1958;11:500-35.
 6. White RAS. Manual of small animal oncology. British Small Animal Veterinary Association. Gloucester, UK, 1991, 380 p.
 7. Blackwood L, Dobson JM. Radiotherapy of oral malignant melanomas in dogs. *J Am Veterinary Med Assoc.* 1996;209(1):98-102.
 8. Theon AP, Rodriguez C, Madewell BR. Analysis of prognostic factors and patterns of failure in dogs with malignant oral tumors treated with megavoltage irradiation. *J Am Veterinary Med Assoc.* 1997;210(6):778-84.
 9. Zaitsev KN, et al. Neutron capture therapy at the MEFPhI reactor. *Int J Nucl Energy Sci Technol.* 2004;1(1):83-101.
 10. Арнопольская АМ. Нейтрон-захватная терапия меланомы слизистой оболочки ротовой полости собак. Дис. канд. вет. наук. М., 2008. 121 с. [Arнопольская АМ. Neutron-capture therapy for dog oral mucosa melanoma. PhD Vet. Moscow, 2008. 121 p. (In Russ.)].
 11. Липенгольц АА, Воробьева ЕС, Черепанов АА и др. Исследование распределения поглощенной дозы при фотон-захватной терапии с интратуморальным введением дозоповышающего агента в меланоме B16F10. Вест Росс Гос Мед Ун-та. 2018;5:70-75. [Lipengolts AA, Vorobyeva ES, Cherepanov AA, et al. Evaluation of Absorbed Dose Distribution in Melanoma B16F10 During Contrast Enhanced Radiotherapy with Intratumoral Administration of Dose-Enhancing Agent. *Bulletin of Russian State Medical University.* 2018;5:70-5 (In Russ.)]. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.062.
 12. Detappe A, Kunjachan S, Rottmann J, et al. AGuIX nanoparticles as a promising platform for image-guided radiation therapy. *Cancer Nanotechnol.* 2015;6(1):4. DOI: 10.1186/s12645-015-0012-3.
 13. Baziulyte-Paulaviciene D, Karabanovas V, Stasys M, et al. Synthesis and functionalization of NaGdF₄:Yb,Er@NaGdF₄ core-shell nanoparticles for possible application as multimodal contrast agents. *Beilstein J Nanotechnol.* 2017;8(1):1815-24. DOI: 10.3762/bjnano.8.183
 14. Ho SL, Choi G, Yue H, et al. *In vivo* neutron capture therapy of cancer using ultrasmall gadolinium oxide nanoparticles with cancer-targeting ability. *RSC Adv.* 2020;10(2):865-74. DOI: 10.1039/C9RA08961F.
- Вклад авторов.** Статья подготовлена с равным участием авторов.
- Contributions.** Article was prepared with equal participation of the authors.
- Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
- Conflict of interests.** Not declared.
- Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Международного научно-технического центра (гранты № 1951 и № 3341).
- Financing.** The study was carried out with the financial support of the International scientific and technical center (grants no. 1951 and no. 3341).
- Информированное согласие.** Все пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
- Informed consent.** All patients signed informed consent to participate in the study.
- Соблюдение правил биоэтики.** Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.
- Compliance with the rules of bioethics.** The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for research and other purposes.
- Сведения об авторах**
- Липенгольц Алексей Андреевич — к.ф.-м.н., старший научный сотрудник; SPIN-код: 9822-6359, AuthorID: 615100.
- Арнопольская Алиса Михайловна — к.в.н., ассистент, AuthorID: 556179.
- Шейно Игорь Николаевич — к.ф.-м.н., зав. лабораторией, SPIN-код: 7374-7849, AuthorID: 600592.
- Кулаков Виктор Николаевич — д.х.н., ведущий научный сотрудник, AuthorID: 46500.

EXPERIMENTAL RADIOLOGY

Experimental Proof of Gadolinium Neutron Capture Therapy Antitumor Efficacy**A.A. Lipengolts^{1,2,3}, A.M. Arnopolskaya³, I.N. Sheino², V.N. Kulakov²**

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology;
24 Kashirskoye Highway, Moscow, Russia 115478

² A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center;
46 Zhivopisnaya str, Moscow, Russia 123182

³ National Research Nuclear University MEPhI;
31 Kashirskoye Highway, Moscow, Russia 115409

Abstract

Neutron capture therapy (NCT) is a promising method of curing cancer, which uses stable isotopes with large thermal neutron capture cross section value (σ) to provide selective damage of a tumor. Boron isotope ^{10}B ($\sigma = 3880$ barn) is the most know and most widely used in NCT isotope. Gadolinium isotope ^{157}Gd has even larger thermal neutron capture cross section value ($\sigma = 254\,000$ barn) than ^{10}B , but secondary radiation emitted by this isotope as the results of neutron capture nuclear reaction is absorbed by tumor tissues less effectively than for ^{10}B .

The purpose of this research was to study gadolinium neutron capture therapy efficacy in curing spontaneous tumors.

13 dogs diagnosed with oral cavity spontaneous melanoma were studied. MRI contrast drug Dipentast[®] was used as a gadolinium containing substance. The drug was injected directly into the tumor immediately before neutron irradiation. The administered dose of the drug was 10 mg of gadolinium per 1 cm³ of tumor. The irradiation was made with thermal neutron beam with neutron flux 7×10^8 n/cm²s and 3–6 cm diameter. The duration of irradiation was 70 minutes.

As the results of the therapy complete tumor regression was achieved in 46 % of animals. Recurrence free period was 106.0 ± 7.5 days for 66.7 % of dogs with complete tumor regression and more than 150 days for 16.7 %.

Key words: *neutron capture therapy, gadolinium, spontaneous tumors, dogs, melanoma*

For citation: Lipengolts AA, Arnopolskaya AM, Sheino IN, Kulakov VN. Experimental Proof of Gadolinium Neutron Capture Therapy Antitumor Efficacy Journal of Oncology: Diagnostic Radiology and Radiotherapy. 2020;3(2):63-70. (In Russ.)

DOI: 10.37174/2587-7593-2020-3-2-63-70

Information about the authors:

Lipengolts A.A., <https://orcid.org/0000-0002-5631-9016>;

Arnopolskaya A.M., <https://orcid.org/0000-0003-0873-3607>

Sheino I.N., <https://orcid.org/0000-0003-0114-4420>