

БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНАЯ ТЕРАПИЯ С БОРФЕНИЛАЛАНИНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ И ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКЕ

Финогорова Ю.А.^{1✉}, Липенгольц А.А.^{1,2}, Шпакова К.Е.^{1,2}, Скрибицкий В.А.^{1,2}, Смирнова А.В.^{1,3}, Григорьева Е.Ю.¹

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

² Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН; Россия, 119991, Москва, Ленинский проспект, 31

³ Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ; Россия, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 1

✉ Финогорова Юлия Андреевна, b-f.finogenova@yandex.ru, +7 915 418 9923

РЕФЕРАТ

Нейтронзахватная терапия (НЗТ) — высокоизбирательный метод бинарной лучевой терапии злокачественных новообразований, основанный на физическом явлении радиационного захвата тепловых нейтронов ядрами атомов. В настоящее время в клинической практике используется только вариант НЗТ с изотопом ¹⁰B, известный как бор-нейтронзахватная терапия (БНЗТ). Для доставки ¹⁰B в опухоль наиболее широко применяется борфенилаланин (БФА) — модифицированная аминокислота. Несмотря на уже более чем 70-летнюю историю клинического применения БНЗТ и многообещающие результаты лечения пациентов с опухолями различных нозологий, данная технология все еще находится на стадии развития и изучения. Наиболее актуальными вопросами являются изучение и прогнозирование лучевых реакций здоровых и опухолевых тканей при проведении БНЗТ с БФА. Ответы на эти вопросы можно получить лишь в исследованиях на животных. В обзоре представлены результаты исследований БНЗТ как на лабораторных животных с различными модельными опухолевыми патологиями, так и в ветеринарной практике. Рассмотрены индуцированные и перевивные модели опухолей центральной нервной системы, ротовой полости, а также подкожные и метастатические модели. Полученные результаты указывают на потенциальную высокую противоопухолевую эффективность БНЗТ с БФА и на принципиально иные механизмы воздействия БНЗТ на опухолевые и нормальные ткани по сравнению с другими известными методами лучевой терапии. Многие вопросы все еще требуют дополнительного изучения с использованием современных методов исследования, таких как прижизненная *in vivo* визуализация лабораторных животных.

Ключевые слова: БНЗТ, борфенилаланин, ветеринария, злокачественные опухоли, опухолевые модели, терапевтическая эффективность, лучевые реакции тканей

Для цитирования: Финогорова Ю.А., Липенгольц А.А., Шпакова К.Е., Скрибицкий В.А., Смирнова А.В., Григорьева Е.Ю. Бор-нейтронзахватная терапия с борфенилаланином в экспериментальной онкологии и ветеринарной практике. Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2024;7(4):28-39. <https://doi.org/10.37174/2587-7593-2024-7-4-28-39>

BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY WITH BORONOPHENYLALANINE IN EXPERIMENTAL ONCOLOGY AND VETERINARY PRACTICE

Yulia A. Finogenova^{1✉}, Alexey A. Lipengolts^{1,2}, Kristina E. Shpakova^{1,2}, Vsevolod A. Skribitsky^{1,2}, Anna V. Smirnova^{1,2}, Elena Yu. Grigorieva¹

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

² N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry; 31, Leninskii prospekt, Moscow, Russia, 119991

³ A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center; 86, Shosse Entuziastov, Moscow, Russia, 111123

✉ Yulia A. Finogenova, b-f.finogenova@yandex.ru, +7 915 418 9923

ABSTRACT

Neutron Capture Therapy (NCT) — highly selective method of binary radiotherapy of malignancies, which is based on physical phenomenon of thermal neutron radiation capture by atoms' nuclei. Currently only ¹⁰B mediated NCT, known as boron neutron capture therapy (BNCT), is used in clinical practice. Boronophenylalanine — a modified amino acid is most widely used as ¹⁰B carrier. Despite of more than 70-years history of BNCT clinical application and promising results of curing patients with different tumors, this method of treatment is still under research and development. The most urgent issue is studying and prediction of radiation effects of healthy and tumor tissues after BNCT application. This task can be solved in experiments involving animals. The review contains results of BNCT studies both in laboratory animals with different tumor models and veterinary practice. Induced and transplanted models of central nervous system, oral cavity as well as subcutaneous and metastatic models are considered in the review. Obtained results of the studies show possible high antitumor efficacy of BPA mediated BNCT and fundamentally different mechanisms of BNCT effect on tumor and healthy tissues comparing to other known types of radiotherapy. Many issues still require addition research with modern methods of studies, such as *in vivo* preclinical imaging.

Key words: BNCT, boronophenylalanine, veterinary, malignant tumors, tumor models, therapeutic efficacy, tissues radiation effects

For citation: Finogenova Yu.A., Lipengolts A.A., Shpakova K.E., Skribitsky V.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Yu. Boron Neutron Capture Therapy with Boronophenylalanine in Experimental Oncology and Veterinary Practice. Journal of Oncology: Diagnostic Radiology and Radiotherapy. 2024;7(4):28-39. (In Russ.). <https://doi.org/10.37174/2587-7593-2024-7-4-28-39>

Введение

Нейтронзахватная терапия (НЗТ) — метод бинарной лучевой терапии при злокачественных новообразованиях, основанный на использовании ядерных реакций радиационного захвата для избирательного поражения опухолевых клеток в теле пациента [1]. Принцип НЗТ спустя всего лишь четыре года после открытия нейтрона был впервые предложен Гордоном Лочером в 1936 г.

Несмотря на то, что с момента первых клинических исследований НЗТ в США в 1952 г. прошло уже 72 года, развитие НЗТ всё ещё продолжается, и современный облик НЗТ пока ещё далек от оптимальной законченной медицинской технологии. Перед исследователями НЗТ всё ещё стоит ряд вопросов, касающихся поиска и разработки новых препаратов для НЗТ, выявления и уточнения радиобиологических особенностей НЗТ, планирования и проведения нейтронных облучений при НЗТ. Для ответа на многие вопросы необходимо проводить заведомо неэффективные или токсичные воздействия на живую систему, и поэтому решение этих задач не может быть осуществлено в рамках клинических исследований и требует проведения разнообразных неклинических исследований на животных. По этой причине, несмотря на то, что в Японии НЗТ имеет статус штатной медицинской технологии, неклинические исследования НЗТ все еще представляют большой интерес для исследователей. В данном обзоре приведены результаты неклинических исследований НЗТ.

В настоящее время в клинической практике используется только вариант НЗТ с изотопом ^{10}B , известный как бор-нейтронзахватная терапия (БНЗТ). Чаще всего БНЗТ применяется при лечении пациентов с злокачественными опухолями головного мозга, особенно глиобластом, а также рецидивирующих опухолей головы и шеи; реже — при меланоме кожи [2]. В клинических исследованиях для доставки бора изучались два соединения: борфенилаланин (БФА) и боркапнат натрия (BSH). Однако на данный момент единственным в мире зарегистрированным препаратом для БНЗТ является лекарственный препарат Steboronine™, зарегистрированный в Японии и представляющий собой инфузионный комплекс БФА с D-сорбитом. Это обусловлено тем, что в доклинических и клинических испытаниях БФА продемонстрировал более высокую избирательность накопления в опухолевой ткани по сравнению с BSH.

Данный обзор сфокусирован на исследованиях *in vivo*, проведенных с использованием БФА в качестве агента для БНЗТ. Исследования на мелких лабораторных грызунах с перевивными или индуцированными опухолями позволили получить информацию о фармакокинетике и биораспределении борсодержащих препаратов, а также об особенностях радиобиологических реакций опухолевых и здоровых тканей. Полученные данные могут быть транслированы в клиническую практику, в том числе через промежу-

точный этап применения в ветеринарной клинической практике.

Изучение радиобиологических эффектов БНЗТ в условиях клинической практики сталкивается с рядом ограничений, обусловленных значительной гетерогенностью опухолей, развивающихся у пациентов, а также строгими этическими требованиями. Поэтому для получения более глубокого понимания радиобиологических процессов, протекающих в опухолевых и здоровых тканях в условиях БНЗТ, требуется проведение экспериментов *in vivo* с использованием лабораторных животных.

Опухоли центральной нервной системы

Одним из основных направлений применения БНЗТ в клинической практике является воздействие на опухоли головного мозга, особенно агрессивных злокачественных форм, таких как глиобластома. Для изучения потенциала БНЗТ в этой области в конце прошлого века группа исследователей под руководством Coderre J.A. провела ряд экспериментов на исследовательском медицинском реакторе в г. Брукхейвен (штат Нью-Йорк, США). В первых исследованиях препарат БФА вводили крысам с имплантированной глиосаркомой 9L интрагастралью через желудочный зонд в виде двух доз по 1500 мг/кг с интервалом в 3 часа. Это было обусловлено очень плохой растворимостью БФА в воде и фактической невозможностью введения больших доз другими путями. БНЗТ показала высокую эффективность при лечении крыс с глиосаркомой: медиана продолжительности жизни животных увеличилась до 60 и 120 сут при расчетной дозе облучения на опухоль 8,9 и 13,4 Гр соответственно по сравнению с 25 сут в контрольной группе. Кроме того, 7 из 16 крыс в группе «8,9 Гр» и 6 из 12 в группе «13,4 Гр» прожили более 5 мес без признаков рецидива. В том же исследовании у крыс с глиосаркомой 9L после фотонного облучения (250 кВ, 30 Гр) медиана выживаемости составила 39 сут; длительная выживаемость отмечалась у 27–31 % животных [3].

Наблюдение за крысами с длительной выживаемостью было продолжено в течение 1 года, после чего эксперимент был завершен. Было проведено гистологическое исследование головного мозга. Основными патологическими изменениями в мозге животных, подвергшихся БНЗТ, было увеличение желудочков и атрофия мозолистого тела разной степени. Область опухоли была замещена соединительнотканым рубцом. У крыс, подвергшихся фотонному облучению головного мозга, отмечались гораздо более серьезные повреждения: двустороннее уменьшение количества нейронов в коре и стриатуме, тяжелая атрофия мозолистого тела. Рубец, замещающий опухоль, имел кистозную структуру. Кроме того, с использованием перфузии головного мозга пероксидазой хрена, было показано, что БНЗТ сохраняет целостность гематоэнцефалического барьера, а фотонное облучение приводит к его нарушению [4].

Той же группой авторов был отдельно изучен вопрос о реакции ткани здорового спинного мозга на облучение в ходе БНЗТ. Для этого область шейного отдела позвоночника здоровых крыс облучали тепловыми нейтронами после интрагастрального введения БФА в суммарной дозе 1500 мг/кг. Использовали несколько различных доз облучения. Далее с помощью пробит-анализа определили, что расчетная доза, вызывающая паралич конечностей у 50 % крыс (ED_{50}), составляет 13,81 Гр. Среднее время до развития паралича составило 21,8 недели. По данным гистологического исследования, радиационное поражение спинного мозга характеризовалось в первую очередь некрозом белого вещества [5]. При дальнейшем исследовании повреждений в спинном мозге на высоких дозах облучения в белом веществе наблюдались кровоизлияния, периваскулярный отёк, лейкоцитарная инфильтрация и признаки демиелинизации. При более высоких дозах облучения наблюдалось и повреждение серого вещества в виде расширения и повреждения кровеносных сосудов, периваскулярной инфильтрации (преимущественно моноцитами). Лишь в группах с самыми высокими дозами (18,1 Гр) наблюдались признаки некроза серого вещества [6]. Авторы делают вывод, что повреждения ЦНС после БНЗТ аналогичны наблюдаемым при фотонном облучении [7]. В данном же исследовании было установлено значение взвешивающего биологического фактора дозы от реакции $^{10}B(n,\alpha)^7Li$ для нормальных тканей головного мозга и центральной нервной системы, равное 1,34. Данная величина используется в настоящее время при оценке суммарной эквивалентной дозы облучения при проведении БНЗТ опухолей центральной нервной системы.

Несмотря на полученные доказательства эффективности БНЗТ при интрагастральном введении БФА, этот способ обладает рядом недостатков. В частности, скорость всасывания препарата в желудочно-кишечном тракте может сильно варьировать в зависимости от физиологического состояния и режима кормления животного. В исследовании [8] сравнивали эффективность доставки БФА в опухоль головного мозга крыс (глиосаркома 9L) после интрагастрального и интраперитонеального пути введения. При интраперитонеальном пути БФА вводили в виде комплекса с фруктозой (БФА-fr), с целью улучшения растворимости. Однократное интраперитонеальное введение 1200 мг/кг БФА позволило достичь концентрации бора в опухоли 89,6 мкг/г. Интрагастральное введение 1500 мг/кг обеспечило лишь 39 мкг/г бора в опухолевой ткани, причем для введения такой дозировки необходимо обеспечить две отдельные порции препарата в связи с физиологическими ограничениями. После проведения БНЗТ 50 % крыс в группе с интрагастральным введением демонстрировали долгосрочную выживаемость (более 8 мес), а в группе с интраперитонеальным введением — 100 % крыс. Также при интраперитонеальном введении БФА-fr исследовали реакцию спинного

мозга на облучение. Как и при интрагастральном введении, у крыс развивалась миелопатия, основным симптомом которой был паралич конечностей. Сроки развития паралича составляли около 20 недель, а ED_{50} варьировала от 17,5 до 25,0 Гр в зависимости от концентрации БФА в крови (42–93 мкг/г) [9]. Хотя интраперитонеальный путь введения показал существенные преимущества по сравнению с интрагастральным, результаты таких исследований сложно экстраполировать на ситуацию реальной клинической практики, в которой внутрибрюшинный путь инъекции применяется крайне редко.

Основным способом введения борсодержащих препаратов в клинической практике является внутривенная инфузия, выполнение которой у крыс технически несколько сложнее, чем интраперитонеальная инъекция. В исследовании [10] было показано, что продолжительная инфузия БФА через катетер, установленный крысам в переднюю лицевую вену, обеспечивает отношение концентрации бора в опухоли и в крови (Т/В) в среднем ~3,6:1. С использованием этого способа была проведена БНЗТ крысам с глиосаркомой 9L. Препарат вводили в течение 2 ч, количество крыс с долгосрочной выживаемостью в опытной группе составило 7 из 15 животных. Увеличение продолжительности инфузии оказалось нецелесообразно, так как даже введение в течение 6 ч не повысило эффективность терапии (долгосрочная выживаемость 7 из 13) [11].

Поиски оптимального способа введения БФА продолжались. В частности, изучалась эффективность БНЗТ при интракаротидной инъекции БФА (в сонную артерию) крысам с глиомой F98. Дополнительно вводили в сонную артерию гипертонический раствор маннитола, что приводило к нарушению гематоэнцефалического барьера и повышению эффективности доставки бора в ткань головного мозга. Через 2,5 ч после внутривенного введения БФА (500 мг/кг) концентрация бора в опухолевой ткани достигала 20,8 мкг/г, после интракаротидной инъекции — 42,7 мкг/г, а после интракаротидной инъекции с маннитолом — 94 мкг/г. После проведения БНЗТ медиана продолжительности жизни в группе с внутривенным введением составила 37 сут, при интракаротидном введении — 48 сут, а при дополнительном применении маннитола увеличилась до 69 сут [12]. Тем не менее, несмотря на впечатляющие результаты исследований *in vivo*, до настоящего момента в клинической практике БНЗТ метод интракаротидного введения БФА не нашел широкого применения.

Эксперименты *in vivo* на Брукхейвенском исследовательском реакторе обосновали эффективность и безопасность БНЗТ, раскрыли зависимость результата терапии от концентрации бора в опухоли и дозы облучения, позволили изучить реакцию здоровой ткани головного и спинного мозга. Продолжение исследований требовало расширения спектра модельных опухолей ЦНС. Несколько таких работ были выполнены в Японии.

Для изучения ранних эффектов БНЗТ облучение проводили крысам с классической опухолевой моделью — глиомой головного мозга С6 — через 4 ч после интраперитонеального введения 1200 мг/кг БФА-*fr*. Уже через 4 сут после облучения крыс выводили из эксперимента, выполняли гистологическое и иммуногистохимическое исследование срезов головного мозга. БНЗТ привела к значительному торможению роста опухоли: средний объем опухоли в группе БНЗТ составлял 39 мм³, а в контрольной группе — 134 мм³. Иммуногистохимическое исследование выявило замедление пролиферативной активности (Ki-67 был снижен до 6,5 % против 35 % в контрольной группе) и уменьшение воспалительной реакции. Полученные данные позволяют предположить, что основным механизмом торможения роста опухоли при БНЗТ является подавление пролиферации опухолевых клеток [13].

Глиомы спинного мозга возникают существенно реже, чем глиомы головного мозга, однако лечение до сих пор остается сложной задачей. В работе [14] для оценки эффективности БНЗТ была разработана модель с введением клеток F98 в спинной мозг, что приводило к развитию опухоли на уровне грудных позвонков Th9-10. Для прижизненной оценки развития опухоли использовали тест «открытое поле» с оценкой движений задних конечностей по шкале ВВВ. Проведение БНЗТ с внутривенным введением БФА-*fr* не только увеличило медиану продолжительности жизни крыс с 15,5 сут в контрольных группах до 32,5 сут в опытной, но и существенно замедлило развитие паралича конечностей.

Моделирование ортотопических опухолей у мышей технически сложнее, чем у крыс, в связи с мелким размером объекта. Однако использование иммунодефицитных мышей в исследованиях *in vivo* предоставляет уникальную возможность оценки влияния терапии на опухоли человека в живой системе. Например, в работе [15] в головной мозг мыши вводили клетки лимфомы Беркитта линии Raji для формирования модельной опухоли. БНЗТ проводили после интраперитонеальной инъекции БФА. Медиана продолжительности жизни мышей в группах БНЗТ составляла 39 или 44 сут (в зависимости от дозы облучения), а в контрольной группе не превышала 31,5 сут. В целом, исследования на иммунодефицитных мышках с имплантированными опухолями головного мозга человека представляют собой перспективное направление для развития бинарной лучевой терапии. Однако на данный момент количество таких работ ограничено. Для оценки противоопухолевой эффективности БНЗТ необходимо продолжать исследования с использованием более широкого ряда ортотопических моделей, что особенно актуально в контексте расширения показаний к БНЗТ в клинике.

Рак полости рта

БНЗТ рассматривается как перспективный метод лечения пациентов с опухолями головы и шеи, к которым, в частности, относится плоскоклеточный рак полости рта. Для моделирования данного заболевания предложена релевантная модель в виде карциномы щечного мешка хомяка, индуцируемой путем многократного введения в щечный мешок канцерогена диметилбензантрацена (ДМБА) [16]. Индуцируемая модель воспроизводит все стадии возникновения рака ротовой полости человека, от предракового состояния до развития злокачественного новообразования [17].

Классический вариант данной модели предполагает введение канцерогена ДМБА в концентрации 0,5 % в минеральном масле дважды в неделю в течение 12–14 недель, что приводит к развитию единичных или множественных опухолей слизистой оболочки у каждого животного. Именно на этой модели группой авторов из Аргентины был проведен ряд экспериментов, которые начались на реакторе RA-6 в городе Сан-Карлос-де-Барилоче. Предварительно было исследовано биораспределение БФА после однократного интраперитонеального введения хомякам в дозе 300 мг/кг. Было показано, что оптимальная концентрация бора в опухоли, а также максимальное отношение Т/В достигались через 3,5 ч после инъекции [18]. Поэтому для исследования БНЗТ 15 хомяков с 23 опухолями щечного мешка были локально облучены через 3,5 ч после введения БФА в дозе 300 мг/кг. Из 23 опухолей, подвергшихся лечению, полная ремиссия наблюдалась в 18 опухолях (78 %), а частичная ремиссия — в 3 опухолях (13 %) в течение 2 недель после облучения. Лишь одна опухоль продолжала расти. Авторы отмечают, что в отдельных случаях сразу после облучения наблюдалось временное увеличение объема опухоли, вероятно, за счет отека и/или воспаления. Таким образом, БНЗТ обеспечила контроль роста опухоли в 91 % случаев на модели рака ротовой полости хомяка, без необратимого повреждения нормальных тканей [19].

Позднее, в период с 2007 по 2011 год, ядерный реактор RA-6 был модернизирован: новая конфигурация обеспечивала более однородное глубинное поле в контексте БНЗТ. Доза от быстрых нейтронов была ниже на 35 % по сравнению с прежней конфигурацией, а фотонная доза выше на 80 %. В связи с этим были проведены повторные радиобиологические исследования БНЗТ рака щечного мешка хомяка с БФА [20]. Облучение проводили через 3 ч после внутривенной инъекции БФА в дозировке 15,5 мг ¹⁰B/кг веса тела. Расчетная поглощенная доза на опухоль составляла 5,86 Гр, однако для расчета локального увеличения поглощенной дозы авторы использовали данные статьи [18], в которой биораспределение исследовано после интраперитонеальной, а не внутривенной инъекции. Были сформированы две опыт-

ные группы животных: в первую группу включено 7 хомяков с 16 опухолями, а во вторую — 8 хомяков с 25 опухолями. В обеих группах изучалась реакция опухолей на БНЗТ, а также развитие лучевого мукозита, являющегося основным побочным явлением при БНЗТ рака ротовой полости [21]. Поскольку ранее для борьбы с данным нежелательным эффектом уже было предложено применение гистамина [22], мышам второй группы подкожно в холку вводили гистамин, ежедневно по 5 мг/кг в течение 5 дней, начиная за 1 день до БНЗТ. В результате облучения наступила полная регрессия 11 из 16 и 22 из 25 опухолей в двух группах животных соответственно. Общий ответ (полная и частичная регрессия опухоли суммарно) наблюдался для 15 из 16 (94 %) и 24 из 25 (96 %) опухолей. Применение гистамина лишь незначительно снижало долю животных с тяжелым мукозитом, однако приводило к ускоренному разрешению мукозита: к 19 сут после БНЗТ мукозит 3–5 степени сохранялся у 86 % животных, облученных без гистамина, и лишь у 50 % облученных с гистамином. Полученные данные не только подтверждают эффективность БНЗТ для рака ротовой полости, но и указывают на то, что применение гистамина в качестве радиопротектора ускоряет снижение проявлений лучевого мукозита, не снижая эффективность лечения [20].

Помимо изучения воздействия БНЗТ на уже сформированные опухоли ротовой полости, авторы исследовали возникновение новых опухолей в рамках концепции «опухолевого поля». Опухолевое поле — это участок ткани, на котором произошли предраковые или атипичные изменения (гиперплазия, дисплазия), приводящие к повышенному риску возникновения новообразований, в связи с чем из одного поля могут формироваться множественные первичные опухоли. На классической модели рака зашечного мешка хомяка с помощью метода включения бромдезоксимуридина *in vivo* было показано, что БНЗТ снижает уровень синтеза ДНК в клетках предраковой ткани и замедляет возникновение новых опухолей [23]. Однако классическая модель не позволяет проводить длительное наблюдение за животными, так как в течение 1 мес у 100 % животных развиваются крупные опухоли (>10 мм³), после чего животные выводятся из эксперимента. Поэтому для оценки предраковых изменений модель была модифицирована: длительность применения канцерогена снижена до 6 недель вместо 12. В результате снижения агрессивности модели срок наблюдения за животными увеличился до 8 мес, при этом в течение первых 21 сут опухоли развивались у 50 % животных, а в течение 8 мес — у 97 %. Кроме того, по данным гистологического исследования, менее агрессивная предраковая ткань лучше имитировала развитие рака ротовой полости человека, а также лучевой мукозита в этой модели тоже был ближе к ятрогенному мукозиту пациентов [21, 24].

С использованием модифицированной модели на реакторе RA-6 была проведена БНЗТ 8 хомякам после интраперитонеального введения БФА в дозе, соответствующей 15,5 мг ¹⁰B/кг. БНЗТ проводили через 1 неделю после окончания 6-недельного курса применения ДМБА. В контрольной группе было 34 животных, которым проводилась индукция канцерогенеза по аналогичной схеме, но вместо БНЗТ проводилась лишь симуляция облучения. Для оценки противоопухолевого эффекта определяли T₅₀ — время до появления опухолей у 50 % хомяков в группе. Оно составило 4–5 недель в контрольной группе, 11 недель в группе животных, облученных без введения БФА, а в группе «БНЗТ с БФА» T₅₀ не было достигнуто за 8 мес наблюдения. У тех животных, у которых опухоль так и не развилась, по данным гистологического исследования, через 8 мес ткань зашечного мешка утрачивала изменения, вызванные канцерогеном, и полностью соответствовала обычной здоровой ткани. Основным побочным явлением БНЗТ оставался лучевой мукозит, который развивался только в том зашечном мешке, который подвергали воздействию канцерогена. В интактном зашечном мешке даже после облучения с БФА мукозита не отмечалось. Эти изменения не могут быть объяснены разницей в концентрации бора, так как на отдельной группе животных было показано отсутствие достоверных различий в накоплении БФА между здоровой слизистой оболочкой и тканью с предраковыми изменениями. Вероятно, наблюдаемые различия связаны с различной радиочувствительностью предраковой и здоровой ткани [25].

Опираясь на полученные данные, авторы предложили проводить БНЗТ повторно через определенный промежуток времени с целью повышения эффективности и безопасности терапии. Новое исследование было проведено на другом реакторе, RA-3 (Буэнос Айрес, Аргентина). Животным опытной группы проводили БНЗТ с БФА дважды с разницей в 6 недель, а контрольной — облучение тепловыми нейтронами без введения БФА. T₅₀ в обеих группах составило 2 мес, однако T₈₀ в группе, облученной без БФА, было достигнуто уже за 4–5 мес, а в группе БНЗТ с БФА — не достигнуто даже за 8 мес [26]. Однако в последующих экспериментах повторная БНЗТ не показала преимуществ перед однократной терапией. Кроме того, при попытках сократить временной интервал между облучениями до 2 или 4 недель, терапевтическая эффективность БНЗТ снижалась. По результатам серии экспериментов, оптимальным режимом БНЗТ оказалось однократное терапевтическое облучение [27].

В исследовании [28] проводилось сравнение результатов БНЗТ с результатом фотонного облучения хомяков с раком зашечного мешка. Авторы показывают, что классический подход к расчету эквивалентной дозы при БНЗТ с использованием относительной биологической эффективности (ОБЭ) недостаточно эффективен.

Это связано с тем, что при БНЗТ на ткани пациента воздействуют несколько компонентов излучения с различными ОБЭ.

В результате стандартный подход приводит к завышению оценочной дозы. Авторы предложили новый подход, который был сформулирован как «концепция фотонной изоэффективной дозы». Фотонная изоэффективная доза представляет собой дозу фотонного излучения, которая произведет биологический эффект, эквивалентный наблюдаемому при БНЗТ при совместном воздействии различных компонентов излучения. Коэффициенты, необходимые для расчетов новой модели, могут быть получены из экспериментов *in vivo* или *in vitro*, однако первый вариант предпочтителен, так как он обеспечивает более адекватное представление о вероятности контроля опухоли. Коэффициенты, полученные *in vitro*, чаще приводят к завышению оценочной дозы [29]. На данный момент концепция изоэффективной дозы не является общепринятым стандартом, однако ее развитие, вероятно, приведет к более точному планированию БНЗТ, в том числе при трансляции полученных результатов в клиническую практику.

Подкожные опухолевые модели

Хотя ортотопические модели наиболее точно отражают механизм развития опухоли в естественных условиях, их создание является трудоемким и сложным процессом. В отличие от них, подкожные перевивные модели значительно проще в создании и воспроизведении. Подкожные модели позволяют измерять размер опухоли и оценивать эффект терапии без необходимости в специализированном оборудовании. Эксперименты на животных с подкожными опухолями позволяют быстро получить данные о перспективности применения БНЗТ для опухолей определенного типа. При этом такие модели не могут полностью заменить ортотопические, так как опухоль лишена своего естественного микроокружения. Тем не менее, полученные результаты могут быть полезны для последующей адаптации терапевтических протоколов на моделях, более приближенных к клиническим условиям.

В качестве примера можно привести модель рака щитовидной железы: ортотопическая модель в организме лабораторной мыши практически невозпроизводима в связи с малым размером органа. В работе [30] клетки ARO (анapластическая карцинома щитовидной железы человека) трансплантировали иммунодефицитным мышам подкожно на бок. После проведения БНЗТ с интраперитонеальным введением БФА-fr в дозировке 350 или 600 мг/кг наблюдалось существенное торможение роста опухоли в обеих группах по сравнению с контрольной. Авторы отметили, что ответ на терапию в значительной мере зависел от начального размера опухоли на момент облучения: из всех опухолей, объем которых был менее 50 мм³, в 50 % случаев наступила полная регрессия. В продолжение данной работы авторы исследовали

возможность применения радиосенсибилизатора BORP (2,4-бис-(α,β -дигидроксиэтил)дейтеропорфирин IX), что дополнительно повысило эффективность БНЗТ [31].

Исследование [32] проводили на мышах с подкожно привитой аденокарциномой предстательной железы человека РС3. Опытной группе выполняли БНЗТ, облучение начинали через 2 ч после интраперитонеального введения 250 мг/кг БФА-fr. Через 9 недель средний размер опухоли составлял 202 мм³, против 1151 мм³ в облученной контрольной группе. После завершения эксперимента был выполнен иммуногистохимический анализ. Индекс Ki-67 в опухолях после БНЗТ был в 2 раза ниже, чем в группе без облучения, а уровень апоптоза в обеих группах был аналогичен. Эти данные подтверждают, что торможение роста опухоли при БНЗТ обусловлено ингибированием пролиферации опухолевых клеток.

В России *in vivo* исследования БНЗТ на лабораторных животных активно проводятся в Новосибирске. Поскольку основным показанием для БНЗТ остаются опухоли головного мозга, ряд исследований был выполнен на мышах с подкожными ксенографтами глиомы человека U87MG. С использованием этой модели авторы исследовали техническую возможность применения ускорительного источника нейтронов для проведения БНЗТ *in vivo* [33], определили диапазон доз для терапевтического облучения [34], провели сравнение стандартных препаратов (БФА, BSH) с новыми наноразмерными формами [35]. При использовании других подкожных моделей БНЗТ на ускорительном источнике также показывала убедительный результат. В частности, БНЗТ с БФА существенно замедляла рост колоректальной аденокарциномы человека SW-620, перевитой подкожно иммунодефицитным мышам: значительное торможение роста опухоли по сравнению с контрольной группой отмечалось с 28-х сут после БНЗТ до конца периода наблюдения (60 сут) [36]. Безусловно, изучение возможностей БНЗТ с использованием ускорительных источников требует активного продолжения экспериментов *in vivo* с использованием разнообразных опухолевых моделей.

Метастатические модели опухолей

Появление метастазов у онкологических пациентов значительно усложняет лечение, ухудшает качество жизни и связано с неблагоприятным прогнозом. Часто именно метастазы, а не первичная опухоль, становятся основной причиной летального исхода. БНЗТ может рассматриваться как перспективный вариант лечения пациентов с метастатическим поражением, поскольку благодаря биологическому, а не геометрическому нацеливанию, БНЗТ может воздействовать даже на микроскопические очаги, не обнаруживаемые при лучевой диагностике. Однако на данный момент клинические исследования БНЗТ при лечении с вторичными опухолями (за исключением локализованных в головном мозге) ограниче-

ны. Для развития этого направления необходимы всесторонние исследования на животных. При этом создание метастатических моделей на лабораторных животных технологически более сложно по сравнению с трансплантацией подкожных опухолей.

При нормальном развитии опухоли её метастазирование обычно происходит лимфогенным или гематогенным путём. Полноценная метастатическая модель должна учитывать эту особенность. В качестве примера такой модели можно привести легочные метастазы сингенного колоректального рака DHD/K12/TRb у крыс BDIX, для создания которых клетки опухоли вводили крысам в яремную вену. В отсутствие технической возможности применения методов лучевой диагностики, исследователи эвтаназировали крыс через различные промежутки времени после введения клеток и подсчитывали количество сформировавшихся очагов. Было установлено, что в период 3–5 недель после введения клеток у 100 % животных развиваются многочисленные васкуляризированные метастазы, при сохранении достаточного количества здоровой лёгочной ткани [37]. С использованием данной модели было проведено исследование БНЗТ с БФА на реакторе RA-3 (Буэнос-Айрес, Аргентина). После облучения крыс наблюдали в течение 2 недель. Затем выполняли эвтаназию, вскрытие и оценку ряда параметров: изменение массы легких; % поверхности доли легкого, занятой метастазами на макроскопическом уровне; % площади, занимаемой метастазами на гистологических срезах легкого. У крыс, прошедших БНЗТ, значения всех трёх параметров были значительно снижены по сравнению с контрольной группой [38].

В исследованиях *in vivo* также могут использоваться опухолевые модели, имитирующие метастатическое поражение, но не задействующие гематогенные или лимфогенные пути распространения клеток. Для создания такой модели осуществляется гетеротопическая трансплантация опухолевых клеток в нехарактерную для них локализацию. Такие модели не являются истинно метастатическими, но в связи с технологичностью создания и высокой надежностью воспроизведения они достаточно широко используются, и позволяют получать информацию о реакции опухолевой ткани на проводимую терапию в условиях другого микроокружения. В работе [39] легочный метастаз светлоклеточной саркомы мягких тканей моделировали путем введения суспензии опухолевых клеток линии MP-CCS-SY иммунодефицитным мышам непосредственно в ткань легкого. Имплантированные клетки формировали одиночный солидный узел, что было подтверждено данными компьютерной томографии (КТ). Для оценки эффективности БНЗТ мышам внутривенно вводили БФА-fr в дозировке, соответствующей 24 мг ^{10}B /кг веса тела, после чего выполняли терапевтическое облучение нейтронами. Ранее авторы данной работы уже показали эффективность БНЗТ при лечении животных со светлоклеточной саркомой

мягких тканей, привитой мышам внутримышечно, что для данного типа опухоли является ортотопической трансплантацией [40]. Сходные результаты были получены и при облучении узла в легком: по данным КТ, в течение 21 сут после терапии размер опухоли в опытной группе уменьшался, в то время как в контрольных группах опухоль продолжала расти. Гистологическое исследование через 21 сут выявило признаки избирательной деструкции опухолевого узла в облученной группе, без повреждения здоровой ткани легкого [39].

Впоследствии той же группой авторов было использовано внутрикостное введение клеток рака молочной железы для симуляции костных метастазов. Клетки MDA-MB-231-luc, маркированные геном фермента люциферазы, вводили иммунодефицитным мышам непосредственно в большеберцовую кость через связку надколенника. За развитием опухоли следили, используя методы лучевой диагностики — КТ и оптическую визуализацию люминесценции. Через 6 недель после трансплантации сигнал люминесценции отчетливо свидетельствовал о развитии опухоли в костномозговом канале большеберцовой кости. На 8-й неделе мышам опытной группы проводили БНЗТ, для этого вводили БФА-fr внутривенно в дозировке 24 мг ^{10}B /кг, доза облучения составляла 5,6 Гр. В контрольных группах интенсивность люминесценции возрастала со временем, что соответствовало продолжению роста опухоли. По данным КТ, через 9–13 недель отмечались признаки остеолитического поражения кости. В облученной группе сигнал люминесценции снижался, случаи остеолитического поражения отсутствовали. Гистологическое исследование, выполненное через 13 недель после БНЗТ, подтверждало существенные различия в размере и состоянии опухолевого узла у мышей опытной и контрольных групп [41].

Симуляция опухолевых очагов в печени технически сложнее, так как для этого требуется лапаротомическая операция. Такая модель была адаптирована для исследований БНЗТ на реакторе RA-3 (г. Буэнос-Айрес, Аргентина): крысам BDIX вводили клетки сингенного колоректального рака DHD/K12/TRb субкапсулярно в печень. В течение 2 недель после трансплантации у 100 % животных развивались локализованные, измеримые, васкуляризированные опухолевые узлы, без перитонеального или легочного распространения. По данным предварительного исследования биораспределения была выбрана дозировка БФА-fr, соответствующая 46,5 мг ^{10}B /кг, причем половина этой дозы вводилась внутривенно, а вторая половина — интраперитонеально. Такой путь введения был выбран в связи с тем, что исключительно интраперитонеальная инъекция является клинически нерелевантной, а исключительно внутривенная не позволяла ввести достаточное количество препарата в ограниченном объеме [42]. До начала БНЗТ крысам повторно выполняли лапарото-

мию с измерением площади поверхности опухолевых узлов. Через 2 недели после БНЗТ крыс эвтаназировали, вновь измеряли площадь поверхности узлов и вычисляли отношение конечной площади к начальной. Это отношение составляло $\sim 2,7$ в контрольных группах, что свидетельствовало о почти трехкратном росте опухоли. В группе крыс, прошедших БНЗТ, отношение площадей опухоли составляло 0,76 — опухоль уменьшалась в размерах [43]. Впоследствии авторы повторили и модифицировали эксперимент, увеличив дозу облучения при БНЗТ и удлив время наблюдения за крысами до 5 недель, полученные результаты еще более убедительно доказывали эффективность и безопасность терапии [44]. В ходе данного исследования у авторов не было технической возможности использовать методы лучевой диагностики, в связи с чем требовалась повторная лапаротомия животных, а измерению подвергалась лишь одна поверхность опухолевого узла, без возможности оценки распространения вглубь ткани печени. В настоящее время внедрение в экспериментальную работу современных методов лучевой диагностики упрощает работу исследователей, приводит к снижению количества требуемых животных, повышает точность и надежность получаемых результатов. Продолжение *in vivo* исследований с использованием разнообразных ортотопических и метастатических опухолевых моделей может ускорить переход к клиническим исследованиям и способствовать расширению показаний к БНЗТ [45–48].

Исследования в ветеринарной клинике

Экспериментальные исследования на мелких лабораторных грызунах с модельными опухолями позволяют изучить фундаментальные закономерности радиобиологических реакций опухолевых и нормальных тканей на терапевтическое облучение. Тем не менее, очевидно, что экспериментальные опухоли грызунов не являются вполне релевантной моделью реальных опухолей, возникающих у человека. С этой точки зрения ветеринарная клиника предоставляет возможность изучения технической осуществимости и терапевтической эффективности новой технологии при лечении достаточно крупных животных со спонтанными опухолями — собак и кошек. Такие опухоли развиваются по закономерным патофизиологическим механизмам, активно взаимодействуя со своим микроокружением, подвергаясь реакции иммунной и эндокринной систем организма — так же, как и опухоли человека. С одной стороны, это делает спонтанные опухоли животных-компаньонов идеальной моделью опухолей человека. С другой стороны, эти опухоли вообще нельзя рассматривать как модель вследствие их крайней гетерогенности. Они возникают в различных органах, в разное время, у животных разного пола, возраста, породы и даже вида, и диагностируются на разных этапах своего развития. Поэтому результаты, получаемые в исследованиях, проводимых в ветеринарной клинике, не

могут быть непосредственно перенесены на человека, но являются промежуточным этапом оптимизации новой технологии лечения между экспериментами на мелких грызунах и клинической практикой.

Первые исследования БНЗТ с БФА в ветеринарной практике начались в Аргентине. В частности, на реакторе RA-6 (г. Сан-Карлос-де-Барилоче) было проведено облучение 5 собак с диагностированными спонтанными опухолями головы и шеи. Все животные находились в терминальном состоянии (ожидаемая продолжительность жизни не превышала 2 мес) и, по мнению ветеринарных врачей, не подлежали каким-либо другим видам терапии. Собакам проводили два сеанса БНЗТ с интервалом 3–5 нед. БФА-*fr* вводили внутривенно в дозировке 350 мг/кг, за 45 мин до начала облучения. После облучения у всех животных отмечалось торможение роста опухоли, объем опухоли уменьшался на 5–50 %. Полных регрессий достигнуто не было — авторы объясняют это тем, что клинический пучок реактора RA-6 предназначен для воздействия на поверхностные опухоли (меланомы), а опухоли у животных, включенных в исследование, распространялись достаточно глубоко. Продолжительность жизни животных после облучения составила от 8,5 до 13,5 мес; лишь одной собаке была выполнена эвтаназия через 2,5 мес в связи с развитием легочных метастазов. У одной собаки возник рецидив через 10 мес, в связи с чем ей было повторно проведена БНЗТ — снова с положительным результатом в виде уменьшения размера опухоли. У всех животных наблюдалось существенное улучшение клинического состояния и качества жизни. Основным выявленным побочным явлением был мукозит, однако он носил временный и обратимый характер [49].

БНЗТ кошек с плоскоклеточным раком головы и шеи в Аргентине вначале провели на реакторе RA-1 в провинции Буэнос-Айрес. Все 3 кошки также находились в терминальном состоянии. Одна из них ранее трижды подвергалась хирургическому удалению опухоли с последующим рецидивированием, а другая за 9 мес до БНЗТ получила 2 цикла химиотерапии без существенного улучшения. Исследование имело несколько целей: подтверждение технической возможности проведения БНЗТ с использованием теплового пучка реактора RA-1, оценка накопления бора в опухоли после инфузии БФА и оценка лучевого поражения здоровых тканей. Для исследования накопления бора через 3 ч после инфузии 300 мг/кг БФА-*fr* у наркотизированных животных отбирали образцы опухоли, слизистой оболочки губы и кожи спины. По данным ICP-OES, концентрация бора в опухоли составляла от 18,2 до 39,2. Отношение Т/В варьировало от 2,3 до 4,3. Таким образом было доказано, что БФА доставляет бор в спонтанные опухоли головы и шеи в концентрации, необходимой для БНЗТ.

После терапевтического облучения у всех животных отмечалось замедление роста опухоли, появление в ней зон некроза. Клинически также наблюда-

лось временное улучшение состояния. Впоследствии, при критическом ухудшении качества жизни, животных подвергали эвтаназии. Таким образом, продолжительность жизни составила у одной кошки 5 мес после терапии, у второй кошки — 2,5 мес, а третьей кошке через 7,5 мес было повторено лечение методом БНЗТ, после чего эвтаназия выполнена через 2 мес. По данным аутопсии, радиационные повреждения здоровых органов у животных отсутствовали. Авторы объясняют это низкой дозой излучения: доза, доставленная в опухоль, составляла ~0,6 Гр [50].

Работа по терапевтическому облучению кошек была продолжена на упомянутом выше реакторе РА-6. В новом исследовании уже оценивали не только техническую возможность БНЗТ, но и ответ опухолей на лечение. Снова было привлечено 3 кошки с плоскоклеточным раком в области носа, не подлежащих другим видам терапии. У всех кошек отмечались астения, затруднение дыхания и снижение аппетита. Препарат БФА-*fr* вводили в уже изученной дозе 300 мг/кг. После облучения у всех животных наблюдалась временная задержка роста опухоли. Побочные явления включали алопецию облученной области (головы) и мукозит. У всех животных отмечались признаки улучшения клинического состояния в виде увеличения подвижности и аппетита, облегчения дыхания. Время от БНЗТ до эвтаназии составляло от 2 до 7,5 мес. После эвтаназии 2 животным выполнена аутопсия, не выявившая признаков радиационного поражения здоровых органов. Владелец третьего животного отказался подписать согласие на аутопсию. В целом, эффективность БНЗТ для кошек с раком головы и шеи оказалась умеренной: отмечался лишь частичный контроль роста опухоли [51].

Экспериментальные работы на базе ветеринарной клиники позволяют варьировать протокол в гораздо более широких рамках, чем при клинических исследованиях. В частности, возможно включение не только животных в терминальном состоянии с запущенными и рецидивирующими опухолями, но и животных с онкологическими заболеваниями на более ранних стадиях развития, что позволит оценить эффективность БНЗТ в качестве монотерапии. Кроме того, в рамках ветеринарной практики возможен подбор режимов введения препарата и облучения. Данное преимущественно было в полной мере реализовано при проведении работ по облучению собак с спонтанной меланомой ротовой полости на отечественном реакторе, установленном в НИЯУ МИФИ. Исследовали два различных пути введения БФА: 10 собакам препарат вводили внутривенно (200–330 мг/кг), а 4 — в артерию, кровоснабжающую опухоль (70 мг/кг). Через 30–45 сут после БНЗТ полная регрессия опухоли наблюдалась у 8 из 10 собак при внутривенном введении БФА и у 3 из 4 собак при внутриартериальном введении. У остальных животных отмечалась частичная регрессия (уменьшение объема опухоли до 70 %). Средняя продолжитель-

ность жизни у собак с полной регрессией опухоли составила 241 ± 106 сут, а с частичной регрессией — 98 ± 32 сут. Основными побочными явлениями были эритема, алопеция, депигментация облученной области, мукозиты, избыточная саливация. На фоне антибактериальной и симптоматической терапии все побочные явления регрессировали в течение 1 месяца. В данном исследовании не было выявлено статистически значимых различий в эффективности БНЗТ при внутривенном и внутриартериальном введении препарата, однако это, возможно, связано с небольшим количеством животных в группах [52, 53].

Во всех вышеперечисленных исследованиях группы животных формировались с учётом схожей локализации и/или гистологического типа опухоли. Исключение составляет исследование, проведённое на ускорительном источнике нейтронов в ИЯФ им. Г.И. Будкера СО РАН (Новосибирск). Целью этой работы была демонстрация возможностей ускорительного источника перед внедрением его в клиническую практику. Поэтому спектр новообразований животных, облученных с помощью данной установки, был крайне широк: остеосаркомы, фибросаркомы, лимфомы, плоскоклеточный рак и т.д. В исследование были включены 3 собаки и 7 кошек. В целом, у всех облученных животных по результатам КТ через 1–3 мес после БНЗТ наблюдалось либо прекращение роста опухоли, либо уменьшение ее объема. Продолжительность жизни после терапии варьировала от 3 до 12 мес, у большинства животных также отмечалось улучшение качества жизни. К сожалению, в 2 случаях долгосрочный мониторинг состояния животного оказался невозможен в связи с тем, что владелец перестал выходить на связь с исследователями. Тем не менее, полученные результаты несомненно доказывают эффективность проведения БНЗТ [54].

Проведение исследований в ветеринарных клиниках с использованием животных-компаньонов поднимает целый ряд биоэтических вопросов. Хотя перед началом экспериментального лечения владельцы животных в обязательном порядке подписывают информированное согласие, на практике готовность владельцев к сотрудничеству может существенно различаться. Как в вышеописанном случае, владельцы могут в какой-то момент прекратить контакты с клиникой, что не позволит оценить долгосрочные последствия терапии и/или определить продолжительность жизни животного. Многие владельцы склонны возлагать большие надежды на экспериментальное лечение. Когда питомец все же умирает, они могут испытывать сильное разочарование и гнев. В такой ситуации вполне объясним отказ от аутопсии, но это приводит к недополучению важных данных. Вероятно, для улучшения ситуации необходимо психологическое сопровождение владельцев на различных этапах исследования, от принятия решения о вступлении в эксперимент до эвтаназии животного.

Применение БНЗТ как нового метода лучевой терапии в ветеринарной клинике не только является промежуточным шагом для внедрения БНЗТ в медицинскую практику, но и вносит значительный вклад в развитие ветеринарной медицины как самостоятельной науки. Исследования БНЗТ могут предоставить ветеринарным врачам инструмент для более эффективного и гуманного лечения животных, обеспечивая повышение качества ветеринарной помощи.

Заключение

Несмотря на длительную историю клинического применения БНЗТ для лечения пациентов со злокачественными новообразованиями, результаты неклинических исследований БНЗТ на лабораторных животных по-прежнему актуальны и представляют интерес как для академических ученых, так и для практикующих БНЗТ клиницистов, так как дают фактическую базу для получения ответов на возникающие в процессе исследований и применения БНЗТ вопросы. Проведение исследований на лабораторных животных в настоящее время также необходимо, как и 70 лет назад. Разработка новых препаратов для БНЗТ, способных избирательно доставлять в опухоль бор, а также расширение области применения БНЗТ на лечение пациентов с новыми нозологиями и локализациями опухолей, требуют уточнения радиочувствительности в условиях облучения как опухолевых, так и нормальных тканей полем смешанного излучения.

Фундаментальные исследования противоопухолевых механизмов БНЗТ также всё ещё являются важной для БНЗТ задачей, требующей проведения неклинических исследований на лабораторных животных.

Полученные на лабораторных животных данные о влиянии БНЗТ на различные опухолевые и нормальные ткани подтверждают значительный потенциал БНЗТ как высокоизбирательного, безопасного и часто безальтернативного метода лечения пациентов с злокачественными опухолями. Многие неклинические исследования, проведенные более 30 лет назад, целесообразно повторить на современном техническом уровне как собственно облучения, так и проведения исследований с визуализацией на лабораторных животных. Доступные в настоящее время для исследований лабораторных животных современные методы лучевой диагностики упрощают работу исследователей, приводят к снижению количества требуемых животных, повышают точность и надежность получаемых результатов. Продолжение *in vivo* исследований с использованием разнообразных ортотопических и метастатических опухолевых моделей может ускорить переход к клиническим исследованиям и способствовать расширению показаний к БНЗТ.

Применение БНЗТ в ветеринарной клинике способствует ускорению внедрения БНЗТ в медицин-

скую практику, а также развитию ветеринарной медицины как самостоятельной науки. Исследования БНЗТ способны обеспечить повышение качества ветеринарной помощи.

Список литературы / References

1. Lipengolts A, Finogenova Y, Skribitsky V, Grigorieva E. Binary technologies of malignant tumors radiotherapy. Journal of Physics Conference Series. 2021;2058(1):012039-012039. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2058/1/012039>
2. Липенгольц АА, Григорьева ЕЮ, Иванов СМ и др. Современное состояние клинической нейтроно-захватной терапии. Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2018;1(1):15-8. Lipengolts AA, Grigorieva EYu, Ivanov SM, et al. Current Status of Clinical Neutron Capture Therapy. Journal of oncology: diagnostic radiology and radiotherapy. 2018;1(1):15-8. (In Russ.) <https://doi.org/10.37174/2587-7593-2018-1-1-15-18>
3. Coderre J, Joel D, Micca P, et al. Control of Intracerebral Gliosarcomas in Rats by Boron Neutron Capture Therapy with p-Boronophenylalanine. Radiat Res. 1992;129(3):290-0. <https://doi.org/10.2307/3578028>
4. Coderre J, Rubin P, Freedman A, et al. Selective ablation of rat brain tumors by boron neutron capture therapy. Int J Radiat Oncol. Biol. Physics. 1994;28(5):1067-77. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(94\)90480-4](https://doi.org/10.1016/0360-3016(94)90480-4)
5. Morris G, Coderre J, Hopewell J, et al. Response of the central nervous system to boron neutron capture irradiation: evaluation using rat spinal cord model. Radiotherapy and Oncology. 1994;32(3):249-55. [https://doi.org/10.1016/0167-8140\(94\)90024-8](https://doi.org/10.1016/0167-8140(94)90024-8)
6. Morris G, Coderre J, Bywaters A, et al. Boron Neutron Capture Irradiation of the Rat Spinal Cord: Histopathological Evidence of a Vascular-Mediated Pathogenesis. Radiat Res. 1996;146(3):313. <https://doi.org/10.2307/3579462>
7. Morris G, Coderre J, Whitehouse E, et al. Boron neutron capture therapy: A guide to the understanding of the pathogenesis of late radiation damage to the rat spinal cord. Int J Radiat Oncol Biol Physics. 1994;28(5):1107-12. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(94\)90484-7](https://doi.org/10.1016/0360-3016(94)90484-7)
8. Coderre J, Button T, Micca P, et al. Neutron capture therapy of the 9l rat gliosarcoma using the P-boronophenylalanine-fructose complex. Int J Radiat Oncol Biol Physics. 1994;30(3):643-52. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(92\)90951-d](https://doi.org/10.1016/0360-3016(92)90951-d)
9. Morris G, Coderre J, Micca P, et al. Central nervous system tolerance to boron neutron capture therapy with p-boronophenylalanine. Br J Cancer. 1997;76(12):1623-9. <https://doi.org/10.1038/bjc.1997.607>
10. Joel D, Coderre J, Micca P, et al. Effect of dose and infusion time on the delivery of p-boronophenylalanine for neutron capture therapy. J Neuro-Oncol. 1999;41(3):213-21. <https://doi.org/10.1023/a:1006176901713>
11. Morris G, Micca P, Nawrocky M, et al. Long-Term Infusions of p-Boronophenylalanine for Boron Neutron Capture Therapy: Evaluation Using Rat Brain Tumor and Spinal Cord Models. Radiat Res. 2002;158(6):743-52. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)158\[0743:ltiopb\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2002)158[0743:ltiopb]2.0.co;2)
12. Barth R, Yang W, Rotaru J, et al. Boron neutron capture therapy of brain tumors: enhanced survival following intracarotid injection of either sodium borocaptate or boronophenylalanine with or without blood-brain barrier disruption. PubMed. 1997;57(6):1129-36. [https://doi.org/10.1016/s0360-3016\(96\)00082-x](https://doi.org/10.1016/s0360-3016(96)00082-x)
13. Nakagawa N, Akai F, Fukawa N, et al. Early effects of boron neutron capture therapy on rat glioma models. Brain Tumor Pathol. 2007;24(1):7-13. <https://doi.org/10.1007/s10014-007-0214-4>

14. Kayama R, Tsujino K, Kawabata S, et al. Translational research of boron neutron capture therapy for spinal cord gliomas using rat model. *Sci Rep*. 2024;14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58728-x>
15. Yoshimura K, Kawabata S, Kashiwagi H, et al. Efficacy of Boron Neutron Capture Therapy in Primary Central Nervous System Lymphoma: *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation. *Cells*. 2021;10(12):3398-8. <https://doi.org/10.3390/cells10123398>
16. Vairaktaris E, Spyridonidou S, Papakosta V, et al. The hamster model of sequential oral oncogenesis. *Oral Oncol*. 2008;44(4):315-24. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2007.08.015>
17. Monti Hughes A, Aromando R, Pérez M, et al. The hamster cheek pouch model for field cancerization studies. *Periodontol*. 2000. 2014;67(1):292-311. <https://doi.org/10.1111/prd.12066>
18. Kreimann E, Itoiz M, Dagrosa A, et al. The hamster cheek pouch as a model of oral cancer for boron neutron capture therapy studies: selective delivery of boron by boronophenylalanine. *Cancer Res*. 2001;61(24):8775-81.
19. Kreimann E, Itoiz M, Longhino J, et al. Boron neutron capture therapy for the treatment of oral cancer in the hamster cheek pouch model. *Cancer Res*. 2001;61(24):8638-42.
20. Monti Hughes A, Longhino J, Boggio E, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) translational studies in the hamster cheek pouch model of oral cancer at the new "B2" configuration of the RA-6 nuclear reactor. *Radiat Environ Biophys*. 2017;56(4):377-87. <https://doi.org/10.1007/s00411-017-0710-9>
21. Monti Hughes A, Goldfinger J, Santa Cruz I, et al. Different oral cancer scenarios to personalize targeted therapy: Boron Neutron Capture Therapy translational studies. *Ther Deliv*. 2019;10(6):353-62. <https://doi.org/10.4155/tde-2019-0022>
22. Monti Hughes A, Pozzi E, Thorp SI, et al. Histamine reduces boron neutron capture therapy-induced mucositis in an oral precancer model. *Oral Dis*. 2015;21(6):770-7. <https://doi.org/10.1111/odi.12346>
23. Heber E, Aromando R, Trivillin V, et al. Therapeutic effect of boron neutron capture therapy (BNCT) on field cancerized tissue: inhibition of DNA synthesis and lag in the development of second primary tumors in precancerous tissue around treated tumors in DMBA-induced carcinogenesis in the hamster cheek pouch oral cancer model. *Arch Oral Biol*. 2007;52(3):273-9. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2006.10.007>
24. Heber E, Monti Hughes A, Pozzi E, et al. Development of a model of tissue with potentially malignant disorders (PMD) in the hamster cheek pouch to explore the long-term potential therapeutic and/or toxic effects of different therapeutic modalities. *Arch Oral Biology*. 2009;55(1):46-51. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2009.10.010>
25. Monti Hughes A, Heber E, Pozzi E, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) inhibits tumor development from precancerous tissue: an experimental study that supports a potential new application of BNCT. *Appl Radiat Isot*. 2009;67(7-8 Suppl):S313-S317. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.03.070>
26. Monti Hughes A, Pozzi E, Heber E, et al. Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) in an oral precancer model: therapeutic benefits and potential toxicity of a double application of BNCT with a six-week interval. *Oral Oncol*. 2011;47(11):1017-22. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.07.014>
27. Monti Hughes A, Pozzi E, Thorp S, et al. Boron neutron capture therapy for oral precancer: proof of principle in an experimental animal model. *Oral Dis*. 2013;19(8):789-95. <https://doi.org/10.1111/odi.12077>
28. González S, Pozzi E, Monti Hughes A, et al. Photon iso-effective dose for cancer treatment with mixed field radiation based on dose-response assessment from human and an animal model: clinical application to boron neutron capture therapy for head and neck cancer. *Phys Med Biol*. 2017;62(20):7938-58. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aa8986>
29. Perotti Bernardini G, Bortolussi S, Koivunoro H, et al. Comparison of Photon Isoeffective Dose Models Based on *In Vitro* and *In Vivo* Radiobiological Experiments for Head and Neck Cancer Treated with BNCT. *Radiat Res*. 2022;198(2):134-44. <https://doi.org/10.1667/RADE-21-00234.1>
30. Dagrosa M, Viaggi M, Longhino J, et al. Experimental application of boron neutron capture therapy to undifferentiated thyroid carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003;57(4):1084-92. [https://doi.org/10.1016/s0360-3016\(03\)00778-8](https://doi.org/10.1016/s0360-3016(03)00778-8)
31. Dagrosa M, Thomasz L, Longhino J, et al. Optimization of boron neutron capture therapy for the treatment of undifferentiated thyroid cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2007;69(4):1059-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.04.061>
32. Takahara K, Inamoto T, Minami K, et al. The Anti-Proliferative Effect of Boron Neutron Capture Therapy in a Prostate Cancer Xenograft Model. *PLoS One*. 2015;10(9):e0136981. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136981>
33. Kanygin V, Zavyalov E, Simonovich A, et al. Boron Neutron Capture Therapy For Human Glioblastoma *In Vivo* Tumor Models. *Современные проблемы науки и образования (Modern Problems of Science and Education)*. 2019;(1). <https://doi.org/10.17513/spno.28480>
34. Kanygin V, Razumov I, Zaboronok A, et al. Dose-Dependent Suppression of Human Glioblastoma Xenograft Growth by Accelerator-Based Boron Neutron Capture Therapy with Simultaneous Use of Two Boron-Containing Compounds. *Biology (Basel)*. 2021;10(11):1124. <https://doi.org/10.3390/biology10111124>
35. Zavyalov E, Zaboronok A, Kanygin V, et al. Accelerator-based boron neutron capture therapy for malignant glioma: a pilot neutron irradiation study using boron phenylalanine, sodium borocaptate and liposomal borocaptate with a heterotopic U87 glioblastoma model in SCID mice. *Int J Radiat Biol*. 2020;96(7):868-78. <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1761039>
36. Kanygin V, Kasatova A, Zavyalov E, et al. Effects of Boron Neutron Capture Therapy on the Growth of Subcutaneous Xenografts of Human Colorectal Adenocarcinoma SW-620 in Immunodeficient Mice. *Bull Exp Biol Med*. 2022;172(3):359-63. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05392-8>
37. Trivillin V, Garabalino M, Colombo L, et al. Bidistribution of the boron carriers boronophenylalanine (BPA) and/or decahydrodecaborate (GB-10) for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) in an experimental model of lung metastases. *Appl Radiat Isot*. 2014;88:94-8. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2013.11.115>
38. Trivillin V, Serrano A, Garabalino M, et al. Translational boron neutron capture therapy (BNCT) studies for the treatment of tumors in lung. *Int J Radiat Biol*. 2019;95(5):646-54. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1564080>
39. Andoh T, Fujimoto T, Suzuki M, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) as a new approach for clear cell sarcoma (CCS) treatment: Trial using a lung metastasis model of CCS. *Appl Radiat Isot*. 2015;106:195-201. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.07.060>
40. Andoh T, Fujimoto T, Sudo T, et al. Boron neutron capture therapy as new treatment for clear cell sarcoma: trial on different animal model. *Appl Radiat Isot*. 2014;88:59-63. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2013.12.007>
41. Andoh T, Fujimoto T, Satani R, et al. Preclinical study of boron neutron capture therapy for bone metastasis using human breast cancer cell lines. *Appl Radiat Isot*. 2020;165:109257. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109257>
42. Garabalino M, Monti Hughes A, Molinari A, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) for the treatment of liver metastases:

- biodistribution studies of boron compounds in an experimental model. *Radiat Environ Biophys.* 2011;50(1):199-207. <https://doi.org/10.1007/s00411-010-0345-6>
43. Pozzi E, Cardoso J, Colombo L, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) for liver metastasis: therapeutic efficacy in an experimental model. *Radiat Environ Biophys.* 2012;51(3):331-9. <https://doi.org/10.1007/s00411-012-0419-8>
44. Pozzi E, Trivillin V, Colombo L, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) for liver metastasis in an experimental model: dose-response at five-week follow-up based on retrospective dose assessment in individual rats. *Radiat Environ Biophys.* 2013;52(4):481-91. <https://doi.org/10.1007/s00411-013-0490-9>
45. Финогенова ЮА, Липенгольц АА, Смирнова АВ, Григорьева ЕЮ. Использование *in vivo* методов радионуклидной визуализации в экспериментальной онкологии. *Сибирский онкологический журнал.* 2020;19(3):137-45. Finogenova YA, Lipengolts AA, Smirnova AV, Grigorieva EY. Nuclear medicine techniques for *in vivo* animal imaging. *Siberian Journal of Oncology.* 2020;19(3):137-45. (In Russ). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-3-137-145>
46. Смирнова АВ, Варакса ПО, Финогенова ЮА и др. Возможность применения магнитно-резонансной томографии в прижизненной верификации метастатического поражения легких мышей. *Российский биотерапевтический журнал.* 2021;20(2):69-75. Smirnova AV, Varaksa PO, Finogenova YuA, et al. Feasibility study of magnetic resonance imaging application in experimental radiology for intravital verification of lungs metastasis in mice. *Russian Journal of Biotherapy* 2021;20(2):69-75. (In Russ). <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-2-69-75>
47. Клементьева ОЕ, Липенгольц АА, Григорьева ЕЮ и др. До-клиническая визуализация очагов продолженного роста экспериментальных ксенографтов рака предстательной железы методом позитронно-эмиссионной компьютерной томографии после терапевтического воздействия лиганда простатспецифического мембранного антигена, меченного лютецием-177. *Российский онкологический журнал.* 2023;28(1):15-26. Klementyeva OE, Lipengolts AA, Grigorieva EY, et al. Preclinical positron emission computed tomography of prolonged tumor growth after lutetium-177 prostate-specific membrane antigen treatment in xenograft model of human prostate cancer. *Russian Journal of Oncology.* 2023;28(1):15-26. (In Russ). <https://doi.org/10.17816/onco501765>
48. Смирнова АВ, Финогенова ЮА, Шпакова КЕ и др. Особенности биологической реакции пищеварительной системы в эксперименте по исследованию препарата на основе ¹⁷⁷Lu. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2024;(5):80-9. Smirnova AV, Finogenova YuA, Shpakova KE, et al. Biological response of digestive system in experimental study of ¹⁷⁷Lu-based compound. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2024;(5):80-9. (In Russ.) <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-225-5-80-89>
49. Schwint A, Monti Hughes A, Garabalino M, et al. Clinical Veterinary Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) Studies in Dogs with Head and Neck Cancer: Bridging the Gap between Translational and Clinical Studies. *Biology (Basel).* 2020;9(10):327. <https://doi.org/10.3390/biology9100327>
50. Rao M, Trivillin V, Heber E, et al. BNCT of 3 cases of spontaneous head and neck cancer in feline patients. *Appl Radiat Isot.* 2004;61(5):947-52. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2004.05.016>
51. Trivillin V, Heber E, Rao M, et al. Boron neutron capture therapy (BNCT) for the treatment of spontaneous nasal planum squamous cell carcinoma in felines. *Radiat Environ Biophys.* 2008;47(1):147-55. <https://doi.org/10.1007/s00411-007-0138-8>
52. Zaitsev K, Portnov A, Mishcherina O, et al. Neutron capture therapy at the MEPhI reactor. *International J Nucl Energy Sci Technol.* 2004;1(1):83. <https://doi.org/10.1504/ijnest.2004.005273>
53. Mitin V, Kulakov V, Khokhlov V, et al. Comparison of BNCT and GdNCT efficacy in treatment of canine cancer. *Applied Radiation and Isotopes.* 2009;67(7-8):S299-S301. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.03.067>
54. Kanygin V, Kichigin A, Zaboronok A, et al. *In Vivo Accelerator-Based Boron Neutron Capture Therapy for Spontaneous Tumors in Large Animals: Case Series.* *Biology (Basel).* 2022;11(1):138. <https://doi.org/10.3390/biology11010138>

Вклад авторов

Ю.А. Финогенова: поиск и анализ материалов, написание текста рукописи.
А.А. Липенгольц: формулирование целей и структуры статьи, научное редактирование, написание итогового варианта рукописи.
К.Е. Шпакова: поиск и анализ литературных источников, написание раздела рукописи.
В.А. Скрибичский: поиск и анализ литературных источников.
А.В. Смирнова: научное редактирование с внесением ценного интеллектуального содержания
Е.Ю. Григорьева: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания

Authors' contributions

Yulia A. Finogenova: search and analysis of literature data, writing the manuscript.
Alexey A. Lipengolts: setting of the objectives and development structure of the article. Search and analysis of literature data, writing the manuscript.
Kristina E. Shpakova: search and analysis for literary data, writing the manuscript.
Vsevolod A. Skribitsky: search and analysis for literary data.
Anna V. Smirnova: scientific editing with valuable intellectual contribution.
Elena Yu. Grigorieva: general supervising, critical revision of the manuscript with valuable intellectual contribution.

Information about the authors

Yulia A. Finogenova, <https://orcid.org/0000-0002-5144-1039>
Alexey A. Lipengolts, <https://orcid.org/0000-0002-5631-9016>
Kristina E. Shpakova, <https://orcid.org/0000-0003-0246-1794>
Vsevolod A. Skribitsky, <https://orcid.org/0000-0003-2942-7895>
Anna V. Smirnova, <https://orcid.org/0000-0003-0386-9732>
Elena Yu. Grigorieva, <https://orcid.org/0000-0001-7726-7991>

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского Научного Фонда № 24-25-00446, <https://rscf.ru/project/24-25-00446/>
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Соответствие принципам этики. Одобрение этического комитета не требовалось.

Тип статьи: Обзор литературы.
Поступила: 22.09.2024.
Принята к публикации: 06.11.2024.
Опубликована online: 26.12.2024.

The study was funded by Russian Science Foundation project № 24-25-00446, <https://rscf.ru/project/24-25-00446/>
Conflict of interests. Not declared.
Ethical compliance. Ethical committee approval was not necessary.

Article type: Literature review.
Received: 22.09.2024.
Accepted for publication: 06.11.2024.
Published online: 26.12.2024.