

УДК 615.013, 57.085.23, 543.423

doi: 10.17223/19988591/55/6

**А.И. Касатова<sup>1,2</sup>, В.В. Каныгин<sup>1</sup>, Е.Л. Завьялов<sup>1,3</sup>,  
И.А. Разумов<sup>1,3</sup>, А.И. Кичигин<sup>1</sup>, А.Р. Цыганкова<sup>4</sup>,  
О.И. Соловьева<sup>3</sup>, Д.А. Касатов<sup>1,2</sup>, В.И. Чернов<sup>5,6</sup>**

<sup>1</sup>Новосибирский национальный исследовательский  
государственный университет, г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, г. Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия

<sup>4</sup>Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, г. Новосибирск, Россия

<sup>5</sup>Томский национальный исследовательский медицинский  
центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

<sup>6</sup>Национальный исследовательский Томский политехнический  
университет, г. Томск, Россия

## **Накопление и токсические эффекты борсодержащих препаратов в моделях SW-620**

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-01007 с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015)

Для последующего применения бор-нейтронозахватной терапии проведена предварительная оценка токсичности и накопления борсодержащих препаратов на модели колоректальной аденокарциномы человека SW-620 *in vitro* и *in vivo*. Обнаружено, что инкубация клеток SW-620 с борфенилаланином и боркапнатом в течение 24 и 48 ч в концентрациях <sup>10</sup>B 10–320 мкг/мл не оказывает цитотоксического эффекта. Внутривенное введение борфенилаланина в концентрации 350 мг/кг и боркапната в концентрации 100 мг/кг иммунодефицитным мышам SCID также оказалось безопасным, и в течение периода наблюдения (2 мес) летальности не наблюдалось. По данным патоморфологического исследования макроскопических и структурных изменений в органах не обнаружено. Биораспределение <sup>10</sup>B оценено на иммунодефицитных мышях SCID с гетеротопическими подкожными ксенографтами SW-620. После введения внутривенно препаратов BPA и BSH в безопасных дозировках максимальная концентрация <sup>10</sup>B в опухоли зафиксирована на временной точке 2 ч для BPA и 1 ч для BSH и составила 8,7 и 5,7 мкг/г соответственно. Для достижения лучшего накопления <sup>10</sup>B в опухоли требуется проведение дополнительных исследований для определения оптимальных как концентрации, так и способов введения борсодержащих препаратов.

**Ключевые слова:** бор-нейтронозахватная терапия; клетки SW-620; борфенилаланин; боркапнат

**Сокращения:** БНЗТ – бор-нейтронозахватная терапия; BPA – борфенилаланин; BSH – боркапнат.

**Для цитирования:** Касатова А.И., Каныгин В.В., Завьялов Е.Л., Разумов И.А., Кичигин А.И., Цыганкова А.Р., Соловьева О.И., Касатов Д.А., Чернов В.И. Накопление и токсические эффекты борсодержащих препаратов в моделях SW-620 // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 55. С. 97–113. doi: 10.17223/19988591/55/6

## Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, колоректальный рак входит в тройку лидеров по причинам смерти среди прочих онкологических заболеваний [1]. Данный вид онкопатологии стоит на втором месте по распространенности в США, по данным Американского онкологического сообщества [2], и заболеваемость в других экономически развитых странах продолжает расти. Колоректальный рак сопровождается симптомами на поздних стадиях, поэтому часто врачам приходится бороться с распространенным опухолевым процессом. Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) – это форма бинарной лучевой терапии, основанная на высокой способности нерадиоактивного ядра  $^{10}\text{B}$  поглощать тепловой нейтрон, в результате чего образуются  $\alpha$ -частица и ядро лития-7. Данные продукты реакции  $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$  имеют высокий темп торможения и малую длину пробега, таким образом, выделенная энергия ограничивается размером одной клетки [3]. БНЗТ ранее активно применялась для лечения пациентов со злокачественными глиомами [4], меланомой [5], раком головы и шеи [6]. Описан также ряд онкологических заболеваний, которые пытались лечить при помощи БНЗТ: метастазы в печень, рецидивирующие опухоли молочных желез, менингиома и меланома вульвы [7–10]. Для определения возможности проведения БНЗТ на ускорительном источнике нейтронов в качестве опции лечения пациентов с диагнозом колоректальный рак необходимо провести предварительные исследования на клетках и лабораторных животных. На первом этапе необходимо провести оценку безопасности применяемых препаратов *in vitro* и *in vivo*, а также изучить биораспределение  $^{10}\text{B}$  в организме для определения времени максимальной концентрации его в опухоли и минимального в органах и крови. Такой подход позволяет подобрать оптимальные дозы борсодержащих препаратов и время для облучения, когда наибольшее лучевое воздействие придется на опухолевые клетки, накопившие максимум бора.

В большинстве работ по БНЗТ представлены сертифицированные борсодержащие препараты L-р-борфенилаланин (BPA) и боркаптат натрия (BSH). Командой под руководством А. Soloway в США [11] первым синтезирован BSH, который имеет в своем составе 12 атомов  $^{10}\text{B}$ . Особенностью его накопления является то, что содержания бора в опухоли и в крови приблизительно сопоставимы, однако соотношение концентрации в опухолевой и окружающей здоровой тканях составляет 3/1 и является подходящим для проведения БНЗТ. Механизм накопления бора в опухоли – пассивная диффузия через опухоль-ассоциированные капилляры. Исследователи из США

вводили BSH внутривенно и внутрикаротидно крысам с внутримозговой опухолью F98. При применении препарата в концентрации 65 мг/кг массы тела летальных случаев и признаков токсичности не описано [12]. В исследованиях Morris et al. отмечено, что при внутривенном введении BSH в дозе 100 мг/кг летальных случаев также не наблюдалось, однако доза 200 мг/кг оказывалась летальной для крыс [13].

ВРА, который начали применять для лечения пациентов с меланомой в 1987 г. [14], содержит только 1 атом  $^{10}\text{B}$  в своей структуре. Идея его использования основана на повышенном захвате предшественников меланина меланомой [15]. Однако отмечено также его накопление в беспигментных опухолях, что позволило использовать его для терапии других злокачественных новообразований [16]. Ученые из США изобрели модель для прогноза фармакокинетики ВРА, вводимого пациентам внутривенно. В своей работе они предлагают использовать препарат в дозировке 350 мг/кг [17]. Финские ученые под руководством L. Kankaanranta использовали ВРА в дозе 290–450 мг/кг в клинических исследованиях, однако при внутривенном введении максимальной дозировки отмечены побочные эффекты [18].

Цель данной работы – определение безопасных концентраций препаратов ВРА и BSH для клеточной линии SW-620 и оценка биораспределения  $^{10}\text{B}$  после введения этих препаратов иммунодефицитным мышам SCID с гетеротопическими SW-620 ксенографтами.

### Материалы и методики исследования

**Препараты.** В исследовании использованы ВРА и BSH, обогащенные изотопом  $^{10}\text{B}$  (> 99,5%, Katchem Ltd., Чехия). Раствор ВРА готовили на деионизованной воде с добавлением фруктозы (Sigma-Aldrich, США) в молярном избытке [19]. Концентрация  $^{10}\text{B}$  в готовом растворе составляла 3 350 мкг/мл. BSH растворяли в растворе натрия хлорида 0,9% (Renewal, Россия), с концентрацией  $^{10}\text{B}$  13 630 мкг/мл. Полученные растворы хранили в холодильнике при температуре +4 °C.

**Исследование цитотоксичности ВРА и BSH *in vitro*.** Линия клеток колоректальной аденокарциномы человека (SW-620) получена в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦИГ СО РАН (Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск). Для определения безопасной концентрации препаратов ВРА и BSH применен МТТ-тест. Клетки высевали в 96-луночный планшет по  $2 \times 10^4$  клеток/лунку. Через сутки в разные лунки добавлены препараты бора до конечных концентраций  $^{10}\text{B}$  в растворе: 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1 280 мкг/мл по 5 повторов для каждой экспериментальной точки, клетки инкубировали в двух временных интервалах – 24 и 48 ч. Контроль – клетки, которые инкубировали без препаратов. Затем в каждую лунку добавляли по 20 мкл раствора [3- (4,5-диметилтиазол-2-ил) -5- (3-карбоксиметоксифенил) -2- (4-сульфофенил) -2Н] тетразолия с мета-

сульфатом феназина (Cell Titer 96® AQueous One Solution, Promega, США). Планшеты инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 2 ч, оптическую плотность растворов определяли на планшетном ридере «BioRad iMark Microplate reader» (США) при длине волны 490 нм. Данные представлены как процент выживаемости относительно контроля.

**Токсичность при внутривенном введении препаратов бора мышам SCID в стандартных концентрациях.** Эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманного отношения к животным в соответствии с директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и соответствуют принципам Руководства по уходу и использованию лабораторных животных, изданного «US NIH» (№ 85-23, пересмотрено в 1985 г.).

Для определения токсичности препаратов ВРА и BSH в стандартных (по данным литературы) дозировках проводили их внутривенное введение (в ретроорбитальный синус) животным, по 3 особи на каждый препарат. Животным из контрольной группы внутривенно вводили натрия хлорид 0,9% (Renewal, Россия). Три раза в неделю регистрировали следующие параметры: состояние кожных покровов, места инъекции, двигательную активность и поведение. Через 2 мес после начала эксперимента мышей подвергали плановой эвтаназии в соответствии с требованиями гуманного отношения к животным с последующим забором органов: почки, печень, легкие, мозг и сердце, которые фиксировали в растворе формальдегида.

**Биораспределение <sup>10</sup>B при внутривенном введении препаратов ВРА и BSH мышам с подкожными ксенографтами SW-620.** В работе использована культура опухолевых клеток колоректальной аденокарциномы человека SW-620, полученная из ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦИГ СО РАН. Клетки культивировали в среде DMEM/F12 (1:1) (Биолот, Россия), содержащей 10% фетальной сыворотки (Gibco, США), 50 мкг/мл гентамицина сульфата (Дальхимфарм, Россия).

Исследование выполнено на иммунодефицитных самцах мышей SCID (SHO-Prkdc<sup>scid</sup>Hr<sup>hr</sup>) SPF-статуса в возрасте 6–7 нед с гетеротопической опухолью, полученной после инъекции суспензии, содержащей  $1 \times 10^7$  клеток SW-620 подкожно в область правого бедра. Животных содержали в Центре генетических ресурсов лабораторных животных на базе ЦКП «SPF-виварий» (ИЦИГ СО РАН) однополыми семейными группами по 2–5 особей в индивидуально вентилируемых клетках (IVC) системы Opti Mice (Animal Care Systems) в контролируемых условиях: световом режиме (свет/темнота 14/10) с рассветом в 01:00, при температуре 22–26 °С, относительной влажности 30–60%. Корм Sniff (Германия) и вода после обратного осмоса, обогащенная минеральной смесью «Северянка», животным предоставлялись *ad libitum*. Всех животных разделили на 5 групп на каждый препарат бора (4 экспериментальные и 1 контрольная), по 3 самца мышей в каждой группе. По достижении ксенографтами объемов 300–500 мм<sup>3</sup> или 8–9 мм в диаметре начинали введение мышам изучаемых препаратов. Препараты бора вводили

внутривенно в ретроорбитальный синус: ВРА в концентрации 350 мкг/г и BSH – 100 мкг/кг. Через 1, 2, 3 и 4 ч после инъекции животных подвергали эвтаназии в соответствии с требованиями гуманного отношения к животным, проводили забор органов (кровь, мозг, опухоль, почки, печень), которые замораживали и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Пробоподготовку части материала (кровь, почки) проводили методом мокрого озоления с применением концентрированной азотной кислоты  $\text{HNO}_3$  («ос.ч.» 27-5) и нагревания до  $90^{\circ}\text{C}$  на Dry Block Heater 2 («IKA», Германия), для пробоподготовки образцов с высоким содержанием жиров (мозг, опухоль, печень) использовали микроволновую печь MARS-5 (США) и автоклавы HP-500 и смесь  $\text{HNO}_3$  и 30%-ной  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1:0,2).

Для оценки концентрации  $^{10}\text{B}$  в образцах применяли метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС ИСП) на спектрометре высокого разрешения iCAP-6500 («Thermo», США) в ИНХ СО РАН (Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, г. Новосибирск, Россия).

Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и пакета STATISTICA 8 с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни при 95% ( $p < 0,05$ ). Значения объемов опухоли приведены как среднее (М) и стандартное отклонение (SD).

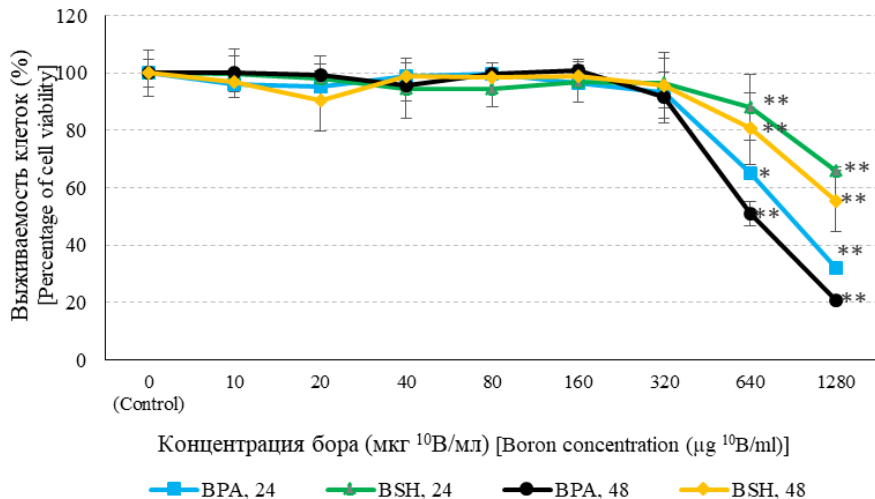
## Результаты исследования и обсуждение

**Исследование цитотоксичности ВРА и BSH *in vitro*.** Для проведения БНЗТ необходимо выбрать препарат и оценить его безопасность. Для этого авторы использовали МТТ-тест, который позволяет выявить ранние цитотоксические эффекты препаратов, содержащих бор.

Ранние цитотоксические эффекты препарата BSH отмечены при концентрации  $^{10}\text{B}$  640 мкг/мл после инкубации 24 ( $p = 0,009$ ) и 48 часов ( $p = 0,009$ ), когда выживаемость клеток снизилась до 87 и 80,5% соответственно. Максимально безопасной концентрацией BSH для *in vitro* исследований можно считать дозу 320 мкг/мл  $^{10}\text{B}$ , так как выживаемость клеток в опытных группах при этом статистически значимо не отличалась от контрольной и составила 96 и 95,5% для 24 и 48 ч инкубации с препаратом соответственно. Для препарата ВРА первые статистически значимые отличия по выживаемости клеток в опытных и контрольных группах появились при концентрации  $^{10}\text{B}$  в растворе 320 мкг/мл как после 24, так и 48 ч инкубации с препаратом. При этом процент выживших клеток – 65 ( $p = 0,016$ ) и 51 ( $p = 0,009$ ) соответственно. Безопасная концентрация на уровне 320 мкг/мл, когда выживаемость статистически значимо не снижалась и уменьшалась не более чем на 9% (рис. 1).

Ранее нами проведены исследования цитотоксичности этих борсодержащих препаратов на других клеточных линиях. В результате показано, что

для линии U87 глиобластомы человека максимальной безопасной концентрацией  $^{10}\text{B}$  при инкубации с ВРА в течение 24 ч является доза 160 мкг/мл, а при использовании BSH – 80 мкг/мл [20].



**Рис. 1.** Определение дозозависимых цитотоксических эффектов препаратов ВРА и BSH при помощи МТТ-теста через 24 и 48 ч с начала инкубации ( $M \pm SD$ ) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ )

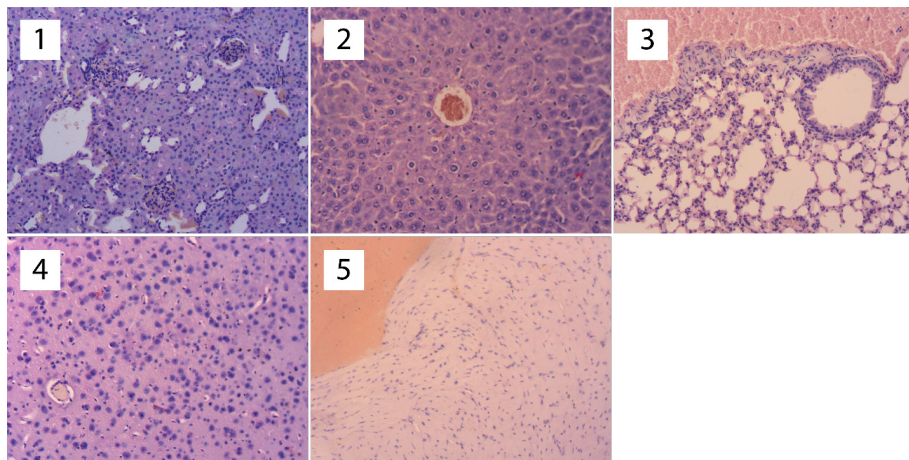
[Fig. 1. Determination of dose-dependent cytotoxic effects of BPA and BSH drugs using MTT test 24 and 48 hours after the start of incubation ( $M \pm SD$ ) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ )]

По-видимому, линия U87 более чувствительна к препаратам бора, чем SW-620. Кроме того, изучены также поздние цитотоксические эффекты ВРА и BSH на линию глиобластомы при помощи клоногенного теста. В результате установлено, что максимально безопасна концентрация  $^{10}\text{B}$  40 мкг/мл [20]. Другая группа ученых, используя клоногенный анализ выявила, что инкубация клеток U251, T98G и V-79 с ВРА в концентрации  $^{10}\text{B}$  100 мкг/мл в течение 2 ч не приводила к снижению пролиферации клеток [21].

В исследовании, проведенном U. De Simone et al. на линиях человеческой астроцитомы D384, нейробластомы SH-SY5Y и первичных фибробластах F26, также изучали цитотоксичность ВРА при помощи МТТ-теста, и обнаружено, что инкубация клеток в течение 24 и 48 ч в концентрации  $^{10}\text{B}$  40–100 мкг/мл значительно снижала жизнеспособность опухолевых линий, в то время как жизнеспособность фибробластов снижалась только при концентрации  $^{10}\text{B}$  100 мкг/мл [22].

**Определение токсичности препаратов бора при внутривенном введении мышам SCID в стандартных концентрациях.** Оценка токсичности препаратов *in vivo* выявила возможность внутривенного введения ВРА в дозировке 350 мг/кг массы тела, BSH – 100 мг/кг массы тела. Через 2 мес после введения препаратов летальности не наблюдалось, активность животных из

опытных групп соответствовала активности в контрольной группе. По данным гистологического исследования, морфологических изменений дистрофического порядка через 2 мес после введения препаратов не обнаружено (рис. 2).



**Рис. 2.** Тканевые срезы мышей SCID: 1 – почка. Полнокровие сосудов; 2 – печень. Гепатоциты без существенных патологических изменений. Центральные вены расширены, полнокровны; 3 – легкие. Полнокровие сосудов интерстиция и межальвеолярных перегородок; 4 – мозг. Минимальный перичеселлярный отек; 5 – сердце. В камерах кровь. Автор фото О.И. Соловьева

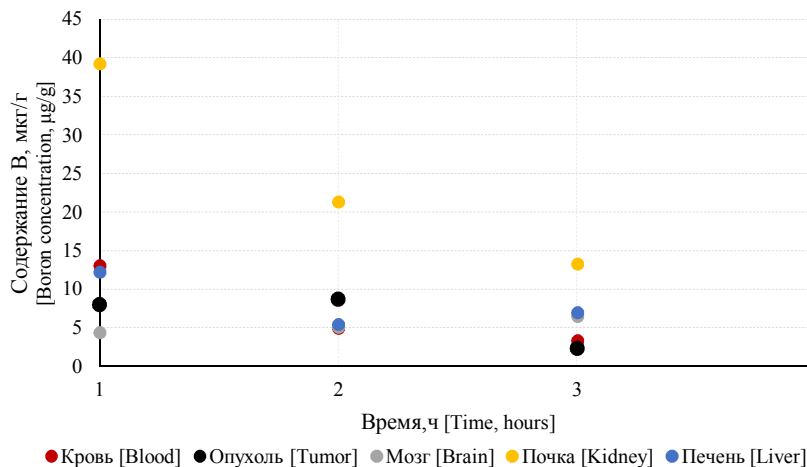
[Fig. 2. Tissue sections of SCID mice: 1 - Kidney. Congestion of blood vessels; 2 - Liver. Hepatocytes without significant pathological changes. Central veins dilated and plethoric; 3 - Lungs. Congestion of the vessels of the interstitium and interalveolar septa; 4 - Brain. Minimal pericellular edema; 5 - Heart. Some blood in the cardiac chambers. Photo by Olga I. Solovieva]

### Тестирование биораспределения $^{10}\text{B}$ при внутривенном введении препаратов ВРА и BSH мышам с подкожными ксенографтами SW-620.

В предыдущих исследованиях установлено, что для успешного проведения БНЗТ необходимо получить концентрацию  $^{10}\text{B}$  в опухолевой ткани равную 20–35 мкг/г, а соотношение  $^{10}\text{B}$  опухоль/окружающая здоровая ткань должно составить 3/1 [23].

Определили динамику накопления  $^{10}\text{B}$  в опухоли, крови и органах после введения препаратов в стандартных концентрациях. В нашем эксперименте, используя метод АЭС ИСП, мы определяли динамику накопления  $^{10}\text{B}$  в опухоли, крови и органах после внутривенного введения препаратов в стандартных концентрациях. В результате для ВРА максимальное накопление  $^{10}\text{B}$  опухолевой тканью зарегистрировано для временных точек 1 и 2 ч и составило 8,0 и 8,7 мкг/г соответственно. При этом соотношение концентраций  $^{10}\text{B}$  в образцах опухоли и крови определено как 0,6 для точки 1 ч и 1,7 для точки 2 ч. Также обнаружено, что больше всего  $^{10}\text{B}$  накапливается

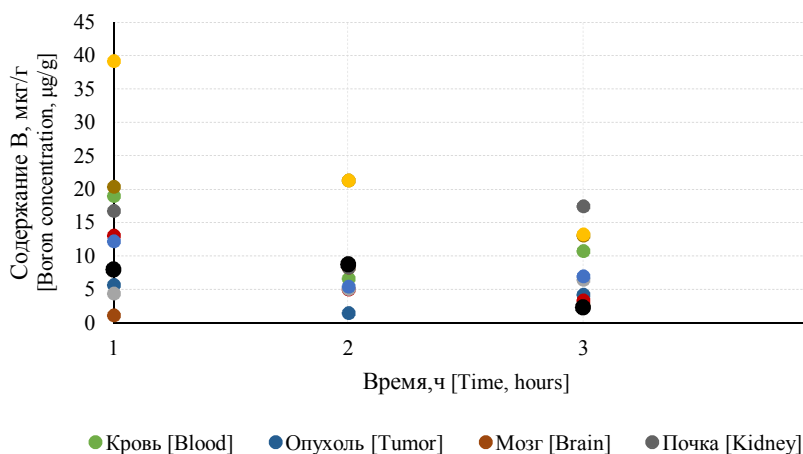
в почках на всем протяжении эксперимента (рис. 3). Временная точка 2 ч может считаться потенциально наиболее подходящей для проведения БНЗТ, однако концентрация бора в опухолевой ткани недостаточна.



**Рис. 3.** Биораспределение  $^{10}\text{B}$  в органах интереса мышей SCID после внутривенной инъекции ВРА на временных точках 1, 2, 3 и 4

[Fig. 3. Biodistribution of  $^{10}\text{B}$  in organs of interest of SCID mice after intravenous injection of BPA for time points of 1, 2, 3 and 4 hours]

После введения BSH значительного пика накопления опухоли не отмечено. Максимальная концентрация  $^{10}\text{B}$  в опухоли составила 5,7 мкг/г. Больше всего  $^{10}\text{B}$  накапливали печень, почки и кровь (рис. 4).



**Рис. 4.** Биораспределение  $^{10}\text{B}$  в органах интереса мышей SCID после внутривенной инъекции BSH на временных точках 1, 2, 3 и 4 ч

[Fig. 4. Biodistribution of  $^{10}\text{B}$  in organs of interest of SCID mice after intravenous injection of BSH for time points of 1, 2, 3 and 4 hours]



По-видимому, дальнейшие исследования по увеличению дозы препарата и выбору иного пути введения могут позволить увеличить накопление  $^{10}\text{B}$  опухолью и уменьшить его концентрацию в окружающих тканях.

В работе [24] авторы изучали накопление  $^{10}\text{B}$  на модели подкожного ксенографта U87 у мышей SCID после внутривенного введения ВРА и BSH и также выявили большую селективность в накоплении бора опухолью после введения борфенилаланина. Так, для ВРА содержание  $^{10}\text{B}$  составило 12 и 11 мкг/г опухоли для временных точек 1 и 2 ч соответственно. Максимальное отношение концентраций  $^{10}\text{B}$  в образцах опухоли и крови 1,6 для точки 2 ч. Для BSH максимальное отношение концентраций  $^{10}\text{B}$  в опухоли и крови составило 1,1 на временной точке 3 ч, однако абсолютное содержание бора в опухоли при этом составило 3 мкг/г. Возможно, ВРА является более перспективным препаратом для БНЗТ при его внутривенном введении, чем BSH.

Группа ученых из Японии исследовала накопление бора после введения BSH в дозе 100 мг/кг в хвостовую вену крысам с ксенографтом 9L глиомы. Бутионин сульфоксимин (Buthionine sulfoximine) использовали в экспериментальной группе как вещество, потенциально улучшающее накопление бора в опухоли. Выявлено, что концентрация  $^{10}\text{B}$  в опухоли для временной точки 3 ч составила 5 мкг/г опухолевой ткани, в то время как в группе BSH + бутионин сульфоксимин накопление бора в опухоли увеличилось и составило 26 мкг/г. Проведенное G. Morris et al. исследование на крысиной модели глиомы C6 выявило значительно более высокое накопление  $^{10}\text{B}$  в опухоли после введения ВРА с предварительным внутрибрюшинным введением препарата Леводопа по сравнению с группой животных, которым данный препарат не вводился [13]. Таким образом, по-видимому, дальнейшие исследования по увеличению дозы препарата и выбору иного пути введения могут позволить увеличить накопление  $^{10}\text{B}$  опухолью и уменьшить его концентрацию в окружающих тканях. Использование дополнительных препаратов, улучшающих проникновение бора в опухоль, может также быть эффективным и должно приниматься во внимание [25].

### Заключение

Определение безопасных концентраций боркаптата и борфенилаланина на клетки SW-620 показало, что инкубация клеток в течение 24 и 48 ч с данными препаратами в концентрациях  $^{10}\text{B}$  10–320 мкг/мл не оказывает значительного цитотоксического эффекта. Внутривенное введение вышеупомянутых препаратов иммунодефицитным мышам SCID в дозах 350 мг ВРА/кг и 100 мг BSH/кг массы тела животного является безопасным, однако не приводит к достаточному накоплению  $^{10}\text{B}$  в опухолевой ткани. Авторы предполагают, что изменение пути введения и повышение дозировок и использование комбинаций препаратов может повысить эффективность накопления бора.

*Авторы выражают искреннюю признательность В.Р. Касатовой за помощь в подготовке иллюстративного материала.*

### *Литература*

1. BO3. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. Cancer Facts & Figures 2020. URL: <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2020.html>
3. Таскаев С.Ю., Каныгин В.В. Бор-нейтронозахватная терапия. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2016. 216 с.
4. Каныгин В.В., Завьялов Е.Л., Симонович А.Е., Кичигин А.И., Касатова А.И., Мухамадияров Р.А., Сибирцев Р.В., Филин Н.С., Сычева Т.В. Бор-нейтронозахватная терапия глиальных опухолей // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 3. С. 190.
5. Hiratsuka J., Kamitani N., Tanaka R., Tokiya R., Yoden E., Sakurai Y., Suzuki M. Long-term outcome of cutaneous melanoma patients treated with boron neutron capture therapy (BNCT) // Journal of Radiation Research. 2020. Vol. 61 (6). PP. 945–951. doi: [10.1093/jrr/rraa068](https://doi.org/10.1093/jrr/rraa068)
6. Koivunoro H., Kankaanranta L., Seppälä T., Haapaniemi A., Mäkitie A., Joensuu H. Boron neutron capture therapy for locally recurrent head and neck squamous cell carcinoma: An analysis of dose response and survival // Radiotherapy and Oncology. 2019. Vol. 137. PP. 153–158. doi: [10.1016/j.radonc.2019.04.033](https://doi.org/10.1016/j.radonc.2019.04.033)
7. Zonta A., Pinelli T., Prati U., Roveda L., Ferrari C., Clerici A.M., Zonta C., Mazzini G., Dionigi P., Altieri S., Bortolussi S., Bruschi P., Fossati F. Extra-corporeal liver BNCT for the treatment of diffuse metastases: what was learned and what is still to be learned // Applied Radiation and Isotopes. 2009. Vol. 67, Iss. 7–8. PP. 67–75. doi: [10.1016/j.apradiso.2009.03.087](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.03.087)
8. Horiguchi H., Nakamura T., Kumada H., Yanagie H., Suzuki M., Sagawa H. Investigation of irradiation conditions for recurrent breast cancer in JRR-4 // Applied Radiation and Isotopes. 2011. Vol. 69, № 12. PP. 1882–1884. doi: [10.1016/j.apradiso.2011.03.036](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.03.036)
9. Takeuchi K., Kawabata S., Hiramatsu R., Matsushita Y., Tanaka H., Sakurai Y., Suzuki M., Ono K., Miyatake S., Kuroiwa T. Boron Neutron Capture Therapy for High-Grade Skull-Base Meningioma // Journal of Neurological Surgery, Part B: Skull Base. 2018. Vol. 79B, № 4. PP. 322–327. doi: [10.1055/s-0038-1666837](https://doi.org/10.1055/s-0038-1666837)
10. Hiratsuka J., Kamitani N., Tanaka R., Yoden E., Tokiya R., Suzuki M., Barth R.F., Ono K. Boron neutron capture therapy for vulvar melanoma and genital extramammary Paget's disease, with curative responses // Cancer Communications. 2018. Vol. 38, № 1. PP. 38. doi: [10.1186/s40880-018-0297-9](https://doi.org/10.1186/s40880-018-0297-9)
11. Soloway A.H., Tjarks W., Barnum B.A., Rong F.-G., Barth R.F., Codogni I.M., Wilson J.G. The Chemistry of Neutron Capture Therapy // Chemical reviews. 1998. Vol. 4. PP. 1515–1562.
12. Yang W., Barth R.F., Rotaru J.H., Moeschberger M.L., Joel D.D., Nawrocky M.M., Goodman J.H., Soloway A.H. Boron neutron capture therapy of brain tumors: enhanced survival following intracarotid injection of sodium borocaptate with or without blood-brain barrier disruption // International Journal of Radiation Oncology. Biology. Physics. 1997. Vol. 37, № 3. PP. 663–672. doi: [10.1016/s0360-3016\(96\)00082-x](https://doi.org/10.1016/s0360-3016(96)00082-x)
13. Morris G., Constantine G., Ross G., Yeung T.K., Hopewell J.W. Boron neutron capture therapy: long-term effects on the skin and spinal cord of the rat // Radiation Research. 1993. Vol. 135, № 3. PP. 380–386.

14. Mishima Y., Ichihashi M., Hatta S., Honda C., Sasase A., Yamamura K., Kanda K., Kobayashi T., Fukuda H. Selective thermal neutron capture therapy and diagnosis of malignant melanoma: from basic studies to first clinical treatment // *Basic Life Sciences*. 1989. Vol. 50. PP. 251–260.
15. Coderre J.A., Glass J.D., Fairchild R.G., Micca P.L., Fand I., Joel D.D. Selective delivery of boron by the melanin precursor analogue p-boronophenylalanine to tumors other than melanoma // *Cancer Research*. 1990. Vol. 50, № 1. PP. 138–141.
16. Barth R.F., Grecula J.C. Boron neutron capture therapy at the crossroads – Where do we go from here? // *Applied Radiation and Isotopes*. 2020. Vol. 160. e109029. doi: [10.1016/j.apradiso.2019.109029](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.109029)
17. Kiger W.S. 3rd, Palmer M.R., Riley K.J., Zamenhof R.G., Busse P.M. A pharmacokinetic model for the concentration of  $^{10}\text{B}$  in blood after boronophenylalanine-fructose administration in humans // *Radiation Research*. 2001. Vol. 155, № 4. PP. 611–618. doi: [10.1667/0033-7587\(2001\)155\[0611:apmfic\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)155[0611:apmfic]2.0.co;2)
18. Kankaanranta L., Seppälä T., Koivunoro H., Välimäki P., Beule A., Collan J., Kortensniemi M., Uusi-Simola J., Kotiluoto P., Auterinen I., Serén T., Paetau A., Saarilahti K., Savolainen S., Joensuu H. L-Boronophenylalanine - mediated boron neutron capture therapy for malignant glioma progressing after external beam radiation therapy: a phase I study // *International Journal of Radiation Oncology. Biology. Physics*. 2011. Vol. 80. PP. 369–376. doi: [10.1016/j.ijrobp.2010.02.031](https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.02.031)
19. Rossini A.E., Dagrosa M.A., Portu A., Saint Martin G., Thorp S. Casal M., Navarro A., Juvenal G.J., Pisarev M.A. Assessment of biological effectiveness of boron neutron capture therapy in primary and metastatic melanoma cell lines // *International Journal of Radiation Biology*. 2015. Vol. 91, № 1. PP. 81–89. doi: [10.3109/09553002.2014.942013](https://doi.org/10.3109/09553002.2014.942013)
20. Бывальцев В.А., Завьялов Е.Л., Каныгин В.В., Касатова А.И., Кичигин А.И., Разумов И.А., Сычева Т.В., Таскаев С.Ю. Цитопатические эффекты бор-нейтронозахватной терапии на ускорительном источнике эпителиальных нейтронов для культуры клеток глиобластомы человека // *Сибирский онкологический журнал*. 2019. Т. 18, № 4. С. 34–42. doi: [10.21294/1814-4861-2019-18-4-34-42](https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-4-34-42)
21. Волкова О.Ю., Мечетина Л.В., Таранин А.В., Заборонок А.А., Nakai K., Лежнин С.И., Фролов С.А., Касатов Д.А., Макаров А.Н., Сорокин И.Н., Сычева Т.В., Щудло И.М., Таскаев С.Ю. Влияние нейтронного излучения на жизнеспособность опухолевых клеток, культивируемых в присутствии изотопа бора  $^{10}\text{B}$  // *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2016. Т. 97, № 5. С. 283–288. doi: [10.20862/0042-4676-2016-97-5-283-288](https://doi.org/10.20862/0042-4676-2016-97-5-283-288)
22. De Simone U., Manzo L., Ferrari C., Bakeine J., Locatelli C., Coccini T. Short and long-term exposure of CNS cell lines to BPA-f a radiosensitizer for Boron Neutron Capture Therapy: safety dose evaluation by a battery of cytotoxicity tests // *NeuroToxicology*. 2012. Vol. 35. PP. 84–90.
23. Neutron Capture Therapy: Principles and Applications / Editors: W.A.G. Sauerwein, A. Wittig, R. Moss, Y. Nakagawa. Berlin, Germany : Springer-Verlag, 2012, ch. 6. PP. 366–531.
24. Цыганкова А.Р., Каныгин В.В., Касатова А.И., Завьялов Е.Л., Гусельникова Т.Я., Кичигин А.И., Мухамадияров Р.А. Определение бора методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Изучение биораспределения  $^{10}\text{B}$  в органах мышей // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2020. № 3. С. 601–607.
25. Yoshida F., Yamamoto T., Nakai K., Zaboronok A., Matsuda M., Akutsu H., Ishikawa E., Shirakawa M., Matsumura A. Pretreatment with buthionine sulfoximine enhanced uptake and retention of BSH in brain tumor // *Applied Radiation and Isotopes*. 2014. Vol. 88. PP. 86–88.

*Поступила в редакцию 29.04.2021 г.; повторно 25.06.2021 г.;  
принята 27.07.2021 г.; опубликована 29.09.2021 г.*

**Авторский коллектив:**

**Касатова Анна Исмагиловна**, м.н.с. лаборатории 9-0, Институт ядерной физики СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 11).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6641-9344>

E-mail: [yarullinaai@yahoo.com](mailto:yarullinaai@yahoo.com)

**Каныгин Владимир Владимирович**, канд. мед. наук, зав. лабораторией МБП БНЗТ, физический факультет, Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9220-8663>

E-mail: [kanigin@mail.ru](mailto:kanigin@mail.ru)

**Завьялов Евгений Леонидович**, канд. биол. наук, зав. ЦКП «SPF-виварий» (Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10/2).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9412-3874>

E-mail: [zavjalov@bionet.nsc.ru](mailto:zavjalov@bionet.nsc.ru)

**Разумов Иван Алексеевич**, д-р биол. наук, проф., с.н.с. лаборатории генетики лабораторных животных, Институт цитологии и генетики СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10/2).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6756-1457>

E-mail: [razumov@bionet.nsc.ru](mailto:razumov@bionet.nsc.ru)

**Кичигин Александр Иванович**, м.н.с. лаборатории МБП БНЗТ, физический факультет, Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-8763-2905>

E-mail: [sam@211.ru](mailto:sam@211.ru)

**Цыганкова Альфия Рафаэльевна**, канд. хим. наук, с.н.с. аналитической лаборатории, Институт неорганической химии СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Академика Лаврентьева, 3).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7126-276X>

E-mail: [alphiya@yandex.ru](mailto:alphiya@yandex.ru)

**Соловьева Ольга Игоревна**, старший лаборант ЦКП «SPF-виварий», Институт цитологии и генетики СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10/2).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8218-2690>

E-mail: [solovieva@bionet.nsc.ru](mailto:solovieva@bionet.nsc.ru)

**Касатов Дмитрий Александрович**, н.с. лаборатории 9-0, Институт ядерной физики СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 11).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-5649-524X>

E-mail: [kasatovd@gmail.com](mailto:kasatovd@gmail.com)

**Чернов Владимир Иванович**, д-р мед. наук, проф., зам. директора по научной работе и инновационной деятельности, заведующий отделением радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН (Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

E-mail: [chernov@tnimc.ru](mailto:chernov@tnimc.ru)

**For citation:** Kasatova AI, Kanygin VV, Zavjalov EL, Razumov IA, Kichigin AI, Tsygankova AR, Solovieva OI, Kasatov DA, Chernov VI. Accumulation and toxic effects of boron-containing drugs in SW-620 models. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;55:97-113. doi: 10.17223/19988591/55/6 In Russian, English Summary

Anna I. Kasatova<sup>1,2</sup>, Vladimir V. Kanygin<sup>1</sup>, Evgenii L. Zavjalov<sup>1,3</sup>, Ivan A. Razumov<sup>1,3</sup>,  
Aleksandr I. Kichigin<sup>1</sup>, Alphiya R. Tsygankova<sup>4</sup>, Olga I. Solovieva<sup>3</sup>,  
Dmitrii A. Kasatov<sup>1,2</sup>, Vladimir I. Chernov<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Budker Institute of Nuclear Physics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>3</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>4</sup>Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>5</sup>Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russian Federation

<sup>6</sup>National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

### Accumulation and toxic effects of boron-containing drugs in SW-620 models

According to the World Health Organization, colorectal cancer is one of the three leading causes of death among other tumors. Boron neutron capture therapy (BNCT) is a promising method for the treatment of oncological diseases. It is an experimental method of radiation therapy which is based on the capture reaction of a thermal neutron by an isotope  $^{10}\text{B}$  and results in the  $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$  fission reaction. The high linear energy transfer from alpha particle and  $^7\text{Li}$  nucleus has a short path length, thus the energy released is limited to the size of one cell. Previously, BNCT was actively used to treat patients with glioblastoma, melanoma, head and neck cancer, and other malignant neoplasms of various localization. The aim of this work is to determine the safe concentrations of boronphenylalanine (BPA) and sodium borocaptate (BSH) drugs for the SW-620 cell line and to assess the  $^{10}\text{B}$  biodistribution after administration of these compounds to immunodeficient SCID mice with heterotopic SW-620 xenografts.

To evaluate the possibility of using BNCT as a therapy for patients with colorectal cancer, we carried out preliminary *in vitro* and *in vivo* studies on the model of human colorectal adenocarcinoma SW-620. Firstly, the cytotoxicity of boron compounds BPA and BSH at  $^{10}\text{B}$  concentrations of 10-1280  $\mu\text{g/ml}$  was investigated using MTT test. All animal experiments were conducted in accordance with the principles of humane treatment of animals in compliance with the directive of the European Community (86/609 / EEC) and correspond to the principles of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH USA, No 85-23, rev. 1985). To determine the toxicity of BPA and BSH in standard dosages, drugs were intravenously injected into the retroorbital sinus: BPA at a concentration of 350 mg/kg and BSH at 100 mg/kg. The control group of animals were injected intravenously with sodium chloride 0.9%. After 2 months of observation planned euthanasia was done, organs (kidneys, liver, lungs, brain and heart) were sampled for pathomorphological study. Biodistribution of  $^{10}\text{B}$  in the tumor and organs of interest was performed on mice with SW-620 heterotopic xenograft. Boron containing drugs were injected at the dosages described earlier intravenously into the retroorbital sinus. Euthanasia was performed 1, 2, 3, and 4 hours after injection, tumor tissue, blood, brain, liver and kidneys were sampled. The boron concentration was analyzed by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP AES).

As a result of the MTT test, we revealed that incubation of SW-620 cells with BPA and BSH for 24 and 48 hours at  $^{10}\text{B}$  concentrations of 10-320  $\mu\text{g/ml}$  had no cytotoxic effect. When incubated for 48 hours with BPA at a concentration of 320  $\mu\text{g/ml}$ , survival rate did not differ significantly from control. The maximum safe concentration for BSH can also be considered 320  $\mu\text{g/ml}$  of  $^{10}\text{B}$ , since the cell survival in the experimental groups was 96 and 95.5% for 24 and 48 hours of incubation with the drug, respectively. The first significant cytotoxic effects were noted during incubation with both boron-containing drugs at a  $^{10}\text{B}$  concentration of 640  $\mu\text{g/ml}$ . For the BPA group, the percentage of survived cells was 65 (incubation for 24 hours)

and 51 (48 hours), BSH had less cytotoxic effect: cell survival decreased to 87% and 80.5% at points 24 and 48 hours, respectively (*See Fig. 1*). Intravenous administration of BPA at a concentration of 350 mg/kg and BSH at a concentration of 100 mg/kg to SCID mice turned out to be safe: no pathological reactions were detected within 2 months of observation, all animals were alive. According to the pathomorphological study, no macroscopic and structural changes in the organs were found (*See Fig. 2*). The biodistribution of  $^{10}\text{B}$  was assessed in SCID mice with subcutaneous xenografts SW-620 after intravenous administration of boron drugs at standard concentrations. As a result of the analysis, we found out that after intravenous administration of BPA at a safe dosage, the maximum concentration of  $^{10}\text{B}$  in the tumor was recorded at the time points of 1 and 2 hours (8.0 and 8.7  $\mu\text{g/g}$ , respectively). In this case, the concentration ratio of  $^{10}\text{B}$  in the tumor and blood samples was determined as 0.6 for the 1 hour point and 1.7 for the 2 hour point. We also demonstrated that the kidneys were the organ with the highest boron accumulation throughout the experiment (*See Fig. 3*). Thus, the time point of 2 hours can be considered potentially the most suitable for BNCT, but the concentration of boron in the tumor tissue is not sufficient. For BSH the maximum concentration was recorded at the time point of 1 hour (5.7  $\mu\text{g/g}$ ). The liver, kidneys and blood contained the highest concentration of  $^{10}\text{B}$  (*See Fig. 4*).

Thus, apparently, further investigations on increasing the dose of the drugs and choosing different ways of boron agents administration can increase the accumulation of  $^{10}\text{B}$  by the tumor and reduce its concentration in the surrounding tissues and blood. The use of additional drugs that improve the penetration of boron into the tumor may also be effective and should be taken into account.

*The paper contains 4 Figures and 25 References.*

**Key words:** boron neutron capture therapy; human colon adenocarcinoma SW-620 cell line; BSH; BPA

**Funding:** This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, grant No 18-29-01007. The equipment of the “Center for Genetic Resources of Laboratory Animals” Core Facility of the Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences was used and supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Project No RFMEFI62117X0015).

**Acknowledgments:** The authors are grateful to Veronika R. Kasatova for the help in preparation of illustrative material.

*The Authors declare no conflict of interest.*

## References

1. WHO [Electronic resource]. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (accessed 04.04.2021)
2. Cancer Facts & Figures 2020 [Electronic resource]. Available at: <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2020.html> (accessed 03.01.2021)
3. Taskaev SYu, Kanygin VV. Boron Neutron Capture Therapy. Novosibirsk: SB RAS Publ.; 2016. 216 p. In Russian
4. Kanygin VV, Zavjalov EL, Simonovich AE, Kichigin AI, Kasatova AI, Mukhamadiyarov RA, Sibirtsev RV, Filin NS, Sycheva TV. Boron neutron capture therapy for glial tumors. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* = *Modern Problems of Science and Education*. 2019;3:190. In Russian, English Summary
5. Hiratsuka J, Kamitani N, Tanaka R, Tokiya R, Yoden E, Sakurai Y, Suzuki M. Long-term outcome of cutaneous melanoma patients treated with boron neutron capture therapy (BNCT). *Journal of Radiation Research*. 2020;61(6):945-951. doi: 10.1093/jrr/rraa068

6. Koivunoro H, Kankaanranta L, Seppälä T, Haapaniemi A, Mäkitie A, Joensuu H. Boron neutron capture therapy for locally recurrent head and neck squamous cell carcinoma: An analysis of dose response and survival. *Radiotherapy and Oncology*. 2019;137:153-158. doi: [10.1016/j.radonc.2019.04.033](https://doi.org/10.1016/j.radonc.2019.04.033)
7. Zonta A, Pinelli T, Prati U, Roveda L, Ferrari C, Clerici AM, Zonta C, Mazzini G, Dionigi P, Altieri S, Bortolussi S, Bruschi P, Fossati F. Extra-corporeal liver BNCT for the treatment of diffuse metastases: what was learned and what is still to be learned. *Applied Radiation and Isotopes*. 2009;67(7-8):67-75. doi: [10.1016/j.apradiso.2009.03.087](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.03.087)
8. Horiguchi H, Nakamura T, Kumada H, Yanagie H, Suzuki M, Sagawa H. Investigation of irradiation conditions for recurrent breast cancer in JRR-4. *Applied Radiation and Isotopes*. 2011;69(12):1882-4. doi: [10.1016/j.apradiso.2011.03.036](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.03.036)
9. Takeuchi K, Kawabata S, Hiramatsu R, Matsushita Y, Tanaka H, Sakurai Y, Suzuki M, Ono K, Miyatake S, Kuroiwa T. Boron Neutron Capture Therapy for High-Grade Skull-Base Meningioma. *Journal of Neurological Surgery, Part B: Skull Base*. 2018;79(4):322-327. doi: [10.1055/s-0038-1666837](https://doi.org/10.1055/s-0038-1666837)
10. Hiratsuka J, Kamitani N, Tanaka R, Yoden E, Tokiya R, Suzuki M, Barth RF, Ono K. Boron neutron capture therapy for vulvar melanoma and genital extramammary Paget's disease, with curative responses. *Cancer Communications*. 2018;38(1):38. doi: [10.1186/s40880-018-0297-9](https://doi.org/10.1186/s40880-018-0297-9)
11. Soloway AH, Tjarks W, Barnum BA, Rong FG, Barth RF, Codogni IM, Wilson JG. The Chemistry of Neutron Capture Therapy. *Chemical reviews*. 1998;4:1515-1562.
12. Yang W, Barth RF, Rotaru JH, Moeschberger ML, Joel DD, Nawrocky MM, Goodman JH, Soloway AH. Boron neutron capture therapy of brain tumors: enhanced survival following intracarotid injection of sodium borocaptate with or without blood-brain barrier disruption. *International Journal of Radiation Oncology. Biology. Physics*. 1997;37(3):663-672. doi: [10.1016/s0360-3016\(96\)00082-x](https://doi.org/10.1016/s0360-3016(96)00082-x)
13. Morris G, Constantine G, Ross G, Yeung TK, Hopewell JW. Boron neutron capture therapy: long-term effects on the skin and spinal cord of the rat. *Radiation Research*. 1993;135(3):380-386.
14. Mishima Y, Ichihashi M, Hatta S, Honda C, Sasase A, Yamamura K, Kanda K, Kobayashi T, Fukuda H. Selective thermal neutron capture therapy and diagnosis of malignant melanoma: from basic studies to first clinical treatment. *Basic Life Sciences*. 1989;50:251-260.
15. Coderre JA, Glass JD, Fairchild RG, Micca PL, Fand I, Joel DD. Selective delivery of boron by the melanin precursor analogue p-boronophenylalanine to tumors other than melanoma. *Cancer Research*. 1990;50(1):138-141.
16. Barth RF, Grecula JC. Boron neutron capture therapy at the crossroads - Where do we go from here? *Applied Radiation and Isotopes*. 2020;160. doi: [10.1016/j.apradiso.2019.109029](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.109029)
17. Kiger WS 3rd, Palmer MR, Riley KJ, Zamenhof RG, Busse PM. A pharmacokinetic model for the concentration of  $^{10}\text{B}$  in blood after boronophenylalanine-fructose administration in humans. *Radiation Research*. 2001;155(4):611-618. doi: [10.1667/0033-7587\(2001\)155\[0611:apmftc\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)155[0611:apmftc]2.0.co;2)
18. Kankaanranta L, Seppälä T, Koivunoro H, Välimäki P, Beule A, Collan J, Kortensniemi M, Uusi-Simola J, Kotiluoto P, Auterinen I, Serén T, Paetau A, Saari-Lahti K, Savolainen S, Joensuu H. L-Boronophenylalanine - mediated boron neutron capture therapy for malignant glioma progressing after external beam radiation therapy: a phase I study. *International Journal of Radiation Oncology. Biology. Physics*. 2011;80:369-376. doi: [10.1016/j.ijrobp.2010.02.031](https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.02.031)
19. Rossini AE, Dagrosa MA, Portu A, Saint Martin G, Thorp S, Casal M, Navarro A, Juvenal GJ, Pisarev MA. Assessment of biological effectiveness of boron neutron capture therapy in primary and metastatic melanoma cell lines. *International Journal of Radiation Biology*. 2015;91(1):81-89. doi: [10.3109/09553002.2014.942013](https://doi.org/10.3109/09553002.2014.942013)

20. Byvaltsev VA, Zavjalov EL, Kanygin VV, Kasatova AI, Kichigin AI, Razumov IA, Sycheva TV, Taskaev SYu. Cytopathic effects of accelerator-based boron neutron capture therapy on human glioblastoma cells. *Siberian Journal of Oncology*. 2019;18(4):34-42. doi: [10.21294/1814-4861-2019-18-4-34-42](https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-4-34-42) In Russian, English Summary
21. Volkova OYu, Mechetina LV, Taranin AV, Zaboronok AA, Nakai K, Lezhnin SI, Frolov SA, Kasatov DA, Makarov AN, Sorokin IN, Sycheva TV, Shchudlo IM, Taskaev SYu. Impact of neutron radiation on the viability of tumor cells cultured in the presence of boron-10 isotope. *Vestnik Rentgenologii i Radiologii = Russian Journal of Radiology*. 2016;97(5):283-288. doi: [10.20862/0042-4676-2016-97-5-283-288](https://doi.org/10.20862/0042-4676-2016-97-5-283-288) In Russian, English Summary
22. De Simone U, Manzo L, Ferrari C, Bakeine J, Locatelli C, Coccini T. Short and long-term exposure of CNS cell lines to BPA-f a radiosensitizer for Boron Neutron Capture Therapy: safety dose evaluation by a battery of cytotoxicity tests. *NeuroToxicology*. 2012;35:84-90. doi: [10.1016/j.neuro.2012.12.006](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.12.006)
23. *Neutron Capture Therapy: Principles and Applications*. Sauerwein WAG, Wittig A, Moss R and Nakagawa Y, editors. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 2012, ch. 6, pp. 366-531.
24. Tsygankova AR, Kanygin VV, Kasatova AI, Zav'yalov EL, Kichigin AI, Gusel'nikova TY, Mukhamadiyarov RA. Determination of boron by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. Biodistribution of  $^{10}\text{B}$  in tumor-bearing mice. *Russian Chemical Bulletin*. 2020;69(3):601-607. doi: [10.1007/s11172-020-2805-8](https://doi.org/10.1007/s11172-020-2805-8)
25. Yoshida F, Yamamoto T, Nakai K, Zaboronok A, Matsuda M, Akutsu H, Ishikawa E, Shirakawa M, Matsumura A. Pretreatment with buthionine sulfoximine enhanced uptake and retention of BSH in brain tumor. *Applied Radiation and Isotopes*. 2014;88:86-88. doi: [10.1016/j.apradiso.2014.02.025](https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2014.02.025)

*Received 29 April 2021; Revised 25 June 2021;  
Accepted 27 July 2021; Published 29 September 2021.*

#### Author info:

**Kasatova Anna I**, Junior Researcher, Laboratory 9-0, Budker Institute of Nuclear Physics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 11 Acad. Lavrentieva Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6641-9344>

E-mail: [yarullinaai@yahoo.com](mailto:yarullinaai@yahoo.com)

**Kanygin Vladimir V**, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Medical and Biological Problems of Boron Neutron Capture Therapy, Novosibirsk State University, 1 Pirogova Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9220-8663>

E-mail: [kanigin@mail.ru](mailto:kanigin@mail.ru)

**Zav'yalov Evgeniy L**, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Center for Collective Usage "SPF"- vivarium, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10/2 Acad. Lavrentieva Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9412-3874>

E-mail: [zavjalov@bionet.nsc.ru](mailto:zavjalov@bionet.nsc.ru)

**Razumov Ivan A**, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Mechanisms of Pathological Processes, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10/2 Acad. Lavrentieva Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6756-1457>

E-mail: [razumov@bionet.nsc.ru](mailto:razumov@bionet.nsc.ru)

**Kichigin Alexander I**, Junior Researcher, Laboratory of Medical and Biological Problems of Boron Neutron Capture Therapy, Novosibirsk State University, 1 Pirogova Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-8763-2905>

E-mail: [sam@211.ru](mailto:sam@211.ru)

**Tsygankova Alphiya R**, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Analytical Laboratory, Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 3 Acad. Lavrentieva Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.



ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7126-276X>

E-mail: [alphiya@yandex.ru](mailto:alphiya@yandex.ru)

**Solovieva Olga I**, Laboratory Assistant, Center for Collective Usage “SPF”- vivarium, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10/2 Acad. Lavrentieva Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8218-2690>

E-mail: [solovieva@bionet.nsc.ru](mailto:solovieva@bionet.nsc.ru)

**Kasatov Dmitrii A**, Researcher, Laboratory 9-0, Budker Institute of Nuclear Physics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 11 Acad. Lavrentieva Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-5649-524X>

E-mail: [kasatovd@gmail.com](mailto:kasatovd@gmail.com)

**Chernov Vladimir I**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director for Science and Innovation, Head of Nuclear Medicine Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Str., Tomsk 634009, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

E-mail: [chernov@tnimc.ru](mailto:chernov@tnimc.ru)