

### ТЕОРИЯ И КОНСТРУИРОВАНИЕ

С.Ю. Таскаев, В.В. Каныгин, В.А. Бывальцев, А.А. Заборонок, О.Ю. Волкова, Л.В. Мечетина, А.В. Таранин, А.И. Кичигин, А.И. Яруллина, И.А. Елисеенко, К. Накай, Э. Сато, Т. Ямамото, Э. Исикава, А. Мацумура

### Перспективы использования ускорительного источника эпитепловых нейтронов для бор-нейтронозахватной терапии

#### Аннотация

Описаны особенности конструкции и основные характеристики компактного ускорительного источника эпитепловых нейтронов для бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ). В результате проведенных исследований подтверждено высокое качество потока нейтронов, формируемого ускорительным источником. Оценены перспективы использования ускорительного источника эпитепловых нейтронов в медицине и проведения бор-нейтронозахватной терапии в условиях онкологической клиники.

#### Введение

Избирательное накопление  $^{10}\text{B}$  внутри клеток опухоли и последующее облучение эпитепловыми нейтронами приводят к разрушению клеток опухоли. При этом окружающие здоровые клетки не подвергаются воздействию облучения [1]. Для проведения БНЗТ необходимы нейтроны в узком энергетическом диапазоне (вблизи верхней границы эпитеплогового диапазона – от 0,5 до 30 кэВ) с высокой плотностью потока –  $10^9 \text{ см}^{-2} \text{ с}^{-1}$  [2].

Для развития нейтронозахватной терапии необходим многопрофильный подход с участием специалистов разных направлений, включая физиков, биологов и врачей. Текущие разработки по БНЗТ с использованием источников нейтронов ускорительного типа находятся на стадии исследований, целью которых является подтверждение эффективности потока нейтронов для последующих клинических испытаний. До настоящего времени единственными источниками нейтронов для БНЗТ являлись специализированные или переоборудованные ядерные реакторы. Сотни пациентов по всему миру прошли процедуру БНЗТ, которая доказала свою эффективность при различных онкологических заболеваниях. Проведенные клинические испытания на реакторах показали, что БНЗТ позволяет лечить опухоли головного мозга [3], в том числе глиобластомы [4], а также опухоли мягких тканей, паренхиматозных органов и кожи [5].

Опыт использования реакторов для получения эпитепловых нейтронов выявил ряд проблем. Это, во-первых, сложность воссоздания пучка с параметрами, необходимыми для клинического применения. Во-вторых, поддержание работы реактора – обеспечение безопасности его использования – требует значительных ресурсов. Кроме того, большинство реакторов территориально не связаны с клиническими базами, и в связи с этим их использование для клинических испытаний может представлять определенные трудности. По этим причинам установка аппаратуры для проведения БНЗТ в лечебном уч-

реждении является чрезвычайно важной задачей. К тому же доступность и стоимость нейтронных источников на основе ускорителей существенно более привлекательна по сравнению с источниками нейтронов на базе ядерных реакторов.

Использование ускорителя позволяет получить наиболее приемлемый для БНЗТ пучок нейтронов благодаря возможности относительно просто и оперативно изменять спектр и поток нейтронов путем изменения энергии и тока пучка заряженных частиц, а также благодаря возможности замены мишени [6]. С 1990-х годов было предложено множество проектов ускорительных источников нейтронов для БНЗТ, но большинство из них не было реализовано до настоящего времени, в основном из-за сложностей в решении поставленных задач.

На сегодняшний день прошла апробацию созданная в ИЯФ СО РАН установка для бор-нейтронозахватной терапии – источник нейтронов на основе ускорителя нового типа – ускорителя-тандема с вакуумной изоляцией и литиевой мишенью [7]. На установке получен стационарный протонный пучок с энергией 2 МэВ и током до 5 мА [8], осуществлена генерация нейтронов и проведены доклинические исследования *in vitro* и *in vivo* [9], [10]. Полученные данные продемонстрировали безопасность и эффективность нейтронного пучка и подтвердили возможность его дальнейшего использования в лечении злокачественных опухолей.

#### Материалы и методы

##### Клеточные линии

Для изучения влияния формируемого потока нейтронов на жизнеспособность клеток человека и животных проводили эксперименты на клеточных линиях, традиционно используемых в исследованиях действия рентгеновского излучения. Клетки глиобластомы человека T98G, яичника китайского хомячка СНО-К1 и фибробластов легкого китайского хомячка V-79 были приобретены в Институте цитологии РАН (г. Санкт-Пе-

тербург, Российская Федерация), культивировались в среде Iscove's modified Dulbecco's medium (IMDM) (SIGMA 17633 с L-глутамином и 25 мМ HEPES, без бикарбоната натрия), содержащей 10 % телячьей сыворотки (Thermo scientific HyClone SV30160.03 HyClone UK Ltd.), и инкубировались при температуре 37 °С в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>.

В качестве препарата адресной доставки бора использовали L-р-борфенилаланин (BPA, «Katchem Ltd.», Чехия). Доставку бора в клетки осуществляли путем инкубации клеток в ростовой среде с борфенилаланином в концентрации 40 ppm в пересчете на <sup>10</sup>B в течение 24 ч. После инкубации клетки промывали буферным раствором, снимали трипсином (0,05 % trypsin-EDTA, «Nacalai Tesque, Inc.», Kyoto, Япония) и помещали в пластиковые флаконы емкостью 2 мл в оригинальной среде, содержащей исходную концентрацию <sup>10</sup>B. Флаконы размещались в фантоме из органического стекла под литиевой мишенью на расстоянии 3 см от поверхности фантома. Клетки, облучаемые без бора, использовались в качестве контроля.

### Облучение эпителивыми нейтронами

Облучение образцов проводили в течение 1...2 ч со следующими параметрами работы ускорителя: энергия протонов – 2 МэВ, ток протонов – 1,5...2 мА. Общий поток нейтронов, прошедших через образцы, составил 3,6; 7,2 или 10,8 × 10<sup>11</sup> см<sup>-2</sup>.

### Колониеобразующий тест

Анализ жизнеспособности клеток после облучения проводили с помощью клоногенного теста [9]. После облучения клетки подсчитывали, разводили и высевали в круглые пластиковые чашки диаметром 6 см. Через 1...2 недели чашки промывали буферным раствором, фиксировали глутаральдегидом, окрашивали кристалльным фиолетовым и высчитывали. Колонии в 50 и более клеток подсчитывали для каждого образца. Данные представлены в виде средних значений ± стандартные отклонения (СО). Достоверность различий с контролем оценивали с помощью одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA).

### Эксперименты на животных

Эксперименты на животных были согласованы и одобрены этическим комитетом НГУ.

Для оценки воздействия потока нейтронов на живой организм использовались иммунодефицитные мыши линии SCID. Была изучена радиочувствительность различных органов и выживаемость мышей в зависимости от дозы нейтронного излучения и наличия введенного в организм препарата бора. В качестве препарата адресной доставки бора использовался боркапнат натрия («Katchem Ltd.», Чехия), который вводили внутривенно в дозе 200 мг/кг. Мышей помещали в специальный контейнер, изготовленный из пластин литиевого полиэтилена, и располагали радиально, головами к центру. В таком контейнере мощность поглощенной дозы под отверстием в 2 раза больше, чем под полиэтиленом, что позволяет уменьшить дозу на те области животного, которые желательнее не подвергать облучению. Животные облучались пучком нейтронов с различным временным интервалом, суммарная доза облучения не превышала 5,7 Гр-экв для особей, получивших препарат бора, и 2,0 Гр-экв для особей без препарата [10]. После облучения животных содержали в SPF-виварии Института цитологии и генетики СО РАН в контролируемых условиях. Период наблюдения длился 1 месяц. В течение эксперимента состояние мышей регистрировали ежедневно. В частности, оценивали изменения состояния кожных покровов, двигательной активности и поведения. Для оценки влияния различных доз радиации на органы животных после окончания периода наблюдения было проведено морфологическое исследование тканей органов (почки, печень, мозг, сердце, селезенка), которые фиксировали в растворе формальдегида.

ком нейтронов с различным временным интервалом, суммарная доза облучения не превышала 5,7 Гр-экв для особей, получивших препарат бора, и 2,0 Гр-экв для особей без препарата [10]. После облучения животных содержали в SPF-виварии Института цитологии и генетики СО РАН в контролируемых условиях. Период наблюдения длился 1 месяц. В течение эксперимента состояние мышей регистрировали ежедневно. В частности, оценивали изменения состояния кожных покровов, двигательной активности и поведения. Для оценки влияния различных доз радиации на органы животных после окончания периода наблюдения было проведено морфологическое исследование тканей органов (почки, печень, мозг, сердце, селезенка), которые фиксировали в растворе формальдегида.

### Результаты и их обсуждение

Специализированный ускорительный источник эпителивых нейтронов для БНЗТ значительно расширяет возможности экспериментальных исследований. Исследование влияния потока нейтронов, полученного на ускорителе, на клеточные культуры линий T98-G, CHO-1K и V-79 показало уменьшение жизнеспособности клеток, инкубированных с борфенилаланином, с увеличением дозы облучения (рис. 1).

Также в экспериментах показано, что на клетки без бора облучение практически не действует, поскольку из-за отсутствия «борной» дозы суммарная поглощенная доза в них значительно ниже при тех же параметрах облучения. Увеличение дозы, полученной клетками в результате поглощения бором нейтронов, приводило к достоверному ( $P < 0,05$ ) уменьшению доли выживших облученных клеток с бором по сравнению с долей выживших после облучения контрольных клеток без бора. Также в наших предыдущих исследованиях выраженное влияние БНЗТ на способность к размножению показано для клеток глиомы человека линии U251 [9].

Через месяц после облучения у лабораторных животных отсутствовала летальность, не было обнаружено также и внешних патологических признаков. По результатам морфологического исследования отмечено минимальное влияние нейтронного излучения на ткани печени и почек в виде вариабельной гидропической дистрофии, а также на клетки селезенки в виде снижения количества фолликулов белой пульпы. Структурных изменений в тканях мозга, который был максимально подвержен облучению, не выявлено. Таким образом, показано, что поток эпителивых нейтронов, полученный на ускорителе, в терапевтических дозах не влияет на жизнеспособность лабораторных животных и не приводит к каким-либо значимым повреждениям жизненно важных органов.

### Заключение

Созданный в Институте ядерной физики СО РАН компактный специализированный источник нейтронов для БНЗТ избавляет от необходимости обеспечения фильтрации, биологической защиты и устранения последствий воздействия быстрых нейтронов и других сопутствующих реакторным пучкам излучений на ткани и системы организма. Ток протонного

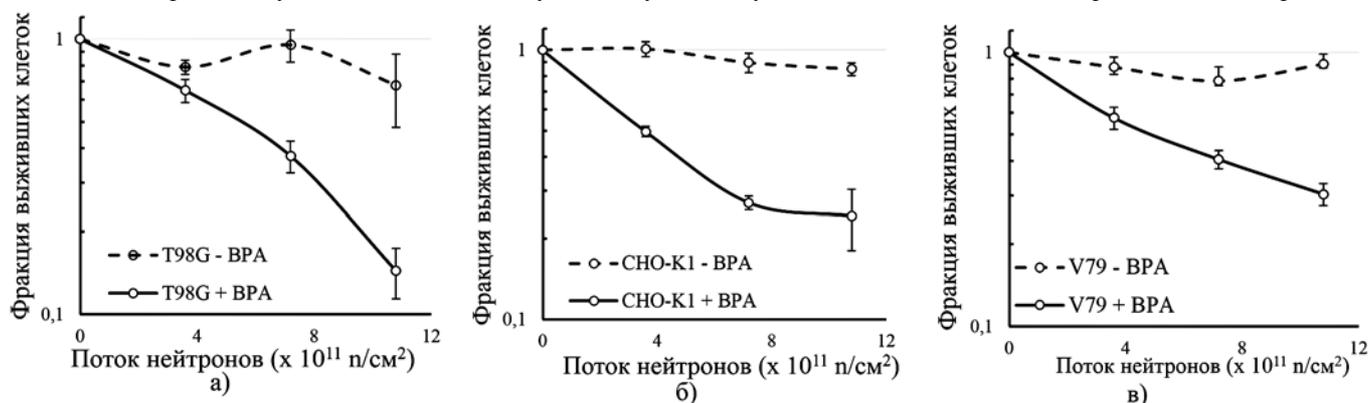


Рис. 1. Фракция выживших клеток T98G (а), CHO-1K (б) и V-79 (в) после инкубации в среде с BPA в концентрации 40 ppm в пересчете на <sup>10</sup>B или без него с последующим облучением потоком эпителивых нейтронов (средние значения ± СО)

пучка в 5 мА, полученный на нейтронном источнике ускорительного типа, является достаточным для генерации требуемой плотности потока эпитепловых нейтронов и отвечает всем требованиям для проведения нейтронозахватной терапии. Проведенные исследования *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали безопасность и эффективность нейтронного пучка, тем самым подтвердив возможность его использования в лечении злокачественных опухолей. Специализированный источник нейтронов для БНЗТ несомненно обеспечивает возможности для более масштабных клинических исследований, поскольку впервые создает достаточно однородную генерацию эпитепловых ускоренных нейтронов. Уникальность прибора, отсутствие аналогов и необычайная актуальность требуют проведения клинических испытаний и оценки их эффективности, выполняемых по целому ряду направлений впервые. Компактный ускорительный источник эпитепловых нейтронов для БНЗТ может быть использован как изолированный медицинский комплекс с привлеченным медперсоналом или установлен в многопрофильном стационаре, что несомненно увеличит безопасность метода БНЗТ в целом, повысит привлекательность этого пока еще сложного в реализации варианта терапии.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-32-00006) при поддержке Института ядерной физики СО РАН и Новосибирского государственного университета и за счет гранта в поддержку научных исследований молодых ученых (В) 17К15797 Министерства образования, культуры, спорта, науки и технологии Японии.*

#### Список литературы:

1. *Locher G.* Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons // *Am. J. Roentgenol. Radium Ther.* 1936. Vol. 36. PP. 1-13.
2. *Sauerwein W.* Neutron Capture Therapy. Principles and Applications. – Springer, 2012. 553 p.
3. *Яруллина А.И., Каныгин В.В., Кичигин А.И. и др.* Лечение опухолей головного мозга методом бор-нейтронозахватной терапии: трудности и современные решения // *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2015. № 4 (62). С. 4-10.
4. *Barth R., Vicente M., Harling O. et al.* Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer // *Radiat. Oncol.* 2012. Vol. 7. 146 p.
5. *Бывальцев В.А., Степанов И.А., Белых Е.Г. и др.* Молекулярная биология глиом высокой степени злокачественности // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2015. Т. 133. № 2. С. 5-9.
6. *Каныгин В.В., Кичигин А.И., Губанова Н.В. и др.* Возможности бор-нейтронозахватной терапии в лечении злокачественных опухолей головного мозга // *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2015. № 6. С. 36-42.
7. *Таскаев С.Ю.* Ускорительный источник эпитепловых нейтронов // *Физика элементарных частиц и атомного ядра.* 2015. Т. 46. № 6. С. 1770-1830.
8. *Иванов А.А., Касатов Д.А., Кошкарев А.М. и др.* Получение протонного пучка с током 5 мА в ускорителе-тандеме с вакуумной изоляцией // *Письма в ЖТФ.* 2016. Т. 42. № 12. С. 1-8.
9. *Волкова О.Ю., Мечетина Л.В., Таранин А.В. и др.* Влияние нейтронного излучения на жизнеспособность опухолевых клеток, культивированных в присутствии изотопа бора 10В // *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2016. Т. 97. № 5. С. 283-288.
10. *Zaboronok A., Byvaltsev V., Kanygin V. et al.* Boron-neutron capture therapy in Russia: Preclinical evaluation of efficacy and perspectives of its application in neurooncology // *New Armenian Medical Journal.* 2017. Vol. 11. № 1. PP. 6-15.

*Сергей Юрьевич Таскаев,  
д-р физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник,  
ИЯФ им. Г.И. Будкера СО РАН,  
зав. лабораторией БНЗТ, ФГБОУ ВПО НГУ,  
Владимир Владимирович Каныгин,  
канд. мед. наук, доцент, кафедра нейрохирургии,  
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России,*

*врач-нейрохирург, онколог, нейрохирургическое отделение  
НУЗ «ДКБ на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД»,  
ведущий научный сотрудник,  
лаборатория БНЗТ, ФГБОУ ВПО НГУ,  
г. Новосибирск,  
Вадим Анатольевич Бывальцев,  
д-р мед. наук, зав. курсом нейрохирургии,  
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России,  
гл. нейрохирург, «ОАО РЖД»,  
руководитель центра нейрохирургии,  
НУЗ «ДКБ на ст. Иркутск-Пассажирский»,  
г. Иркутск,  
профессор, кафедра травматологии, ортопедии  
и нейрохирургии ИГМА последипломного образования,  
ведущий научный сотрудник, лаборатория БНЗТ,  
ФГБОУ ВПО НГУ,  
г. Новосибирск,  
Александр Анатольевич Заборонок,  
канд. мед. наук, ассистент,  
кафедра нейрохирургии медицинского факультета,  
Университет Цукуба,  
г. Цукуба, Япония,  
научный сотрудник, лаборатория БНЗТ, ФГБОУ ВПО НГУ,  
г. Новосибирск,  
Ольга Юрьевна Волкова,  
канд. биол. наук, ст. научный сотрудник,  
лаборатория иммуногенетики, ФГБУН ИМКБ СО РАН,  
Людмила Васильевна Мечетина,  
канд. биол. наук, ст. научный сотрудник,  
лаборатория иммуногенетики, ФГБУН ИМКБ СО РАН,  
ст. преподаватель,  
кафедра физиологии факультета естественных наук,  
ФГБОУ ВПО НГУ,  
Александр Владимирович Таранин,  
д-р биол. наук, зав. лабораторией иммуногенетики,  
ФГБУН ИМКБ СО РАН,  
г. Новосибирск,  
Александр Иванович Кичигин,  
аспирант курса нейрохирургии,  
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России,  
г. Иркутск,  
научный сотрудник, лаборатория БНЗТ, ФГБОУ ВПО НГУ,  
г. Новосибирск,  
Анна Исмагиловна Яруллина,  
аспирант курса нейрохирургии,  
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России,  
г. Иркутск,  
научный сотрудник, лаборатория БНЗТ, ФГБОУ ВПО НГУ,  
г. Новосибирск,  
Иван Алексеевич Елисеенко,  
ординатор, кафедра нейрохирургии,  
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России,  
г. Новосибирск,  
Кей Накай,  
канд. мед. наук, доцент, факультет медицинских наук,  
Префектурный университет медицинских наук Ибараки,  
г. Ами, Япония,  
Эйске Сато, аспирант,  
Тэцун Ямамото, канд. мед. наук, доцент,  
Эйичи Исикава, канд. мед. наук, доцент,  
Акира Мацумура, д-р мед. наук, профессор,  
кафедра нейрохирургии медицинского факультета,  
Университет Цукуба,  
г. Цукуба, Япония,  
e-mail: eliseenkoivan@gmail.com*