

Влияние нейтронного излучения на жизнеспособность опухолевых клеток, культивируемых в присутствии изотопа бора ^{10}B

О.Ю. Волкова¹, к. б. н., ст. науч. сотр.;
Л.В. Мечетина^{1,5}, к. б. н., ст. науч. сотр.;
А.В. Таранин^{1,5}, д. б. н., заведующий лабораторией;
А.А. Заборонок², к. м. н., доцент;
К. Nakai², д. м. н., доцент;
С.И. Лежнин^{3,5}, д. ф.-м. н., профессор, гл. науч. сотр.;
С.А. Фролов³, инженер;
Д.А. Касатов⁴, мл. науч. сотр.;
А.Н. Макаров⁴, к. ф.-м. н., мл. науч. сотр.;
И.Н. Сорокин⁴, к. т. н., науч. сотр.;
Т.В. Сычева⁴, инженер;
И.М. Щудло⁴, аспирант;
С.Ю. Таскаев^{4,5}, д. ф.-м. н., вед. науч. сотр.

¹ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии»

Сибирского отделения Российской академии наук,
пр-т Академика Лаврентьева, 8/2, Новосибирск, 630090, Российская Федерация;

²University of Tsukuba, Tsukuba, 305-8577, Japan;

³Новосибирский филиал ФГБУН «Институт проблем безопасного развития
атомной энергетики» Российской академии наук,
пр-т Академика Лаврентьева, 1, Новосибирск, 630090, Российская Федерация;

⁴ФГБУН «Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера» Сибирского отделения Российской академии наук,
пр-т Академика Лаврентьева, 11, Новосибирск, 630090, Российская Федерация;

⁵ФГБОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»,
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Российская Федерация

Impact of neutron radiation on the viability of tumor cells cultured in the presence of boron-10 isotope

O.Yu. Volkova¹, PhD in Biol. Sci., Senior Research Associate;
L.V. Mechetina^{1,5}, PhD in Biol. Sci., Senior Research Associate;
A.V. Taranin^{1,5}, Dr. of Biol., Head of the Laboratory;
A.A. Zaboronok², MD, PhD, Associate Professor;
K. Nakai², MD, PhD, DSc, Associate Professor;
S.I. Lezhnin^{3,5}, Dr of Phys. and Math., Professor, Chief Research Associate;
S.A. Frolov³, Engineer;
D.A. Kasatov⁴, Junior Research Associate;
A.N. Makarov⁴, PhD in Phys. and Math. Sci., Junior Research Associate;
I.N. Sorokin⁴, PhD in Tech. Sci., Research Associate;
T.V. Sycheva⁴, Engineer;
I.M. Shchudlo⁴, Postgraduate;
S.Yu. Taskaev^{4,5}, Dr of Phys. and Math., Leading Research Associate

¹Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
prospekt Akademika Lavrent'eva, 8/2, Novosibirsk, 630090, Russian Federation;

²University of Tsukuba, Tsukuba, 305-8577, Japan;

³Novosibirsk Branch of the Nuclear Safety Institute of the Russian Academy of Sciences,
prospekt Akademika Lavrent'eva, 1, Novosibirsk, 630090, Russian Federation;

⁴G.I. Budker Institute of Nuclear Physics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
prospekt Akademika Lavrent'eva, 11, Novosibirsk, 630090, Russian Federation;

⁵Novosibirsk State University, ul. Pirogova, 2, Novosibirsk, 630090, Russian Federation

Цель исследования – изучение влияния потока нейтронов, формируемого на ускорительном источнике эпителиальных нейтронов ИЯФ им. Г.И. Будкера, на жизнеспособность опухолевых клеток человека и клеток млекопитающих, культивируемых в присутствии изотопа бора ^{10}B .

Материал и методы. Клетки глиомы человека U251 и T98G и клетки китайского хомячка CHO-K1 и V-79 инкубировали в ростовой среде, содержащей L-борфенилаланин, обогащенный изотопом ^{10}B в различных концентрациях. Клетки облучали потоком нейтронов на ускорительном источнике эпителиальных нейтронов. Для оценки жизнеспособности облученных клеток использовали клоногенный тест. Поглощенные дозы, полученные в результате упругого рассеяния быстрых нейтронов на ядрах вещества, и дозы, полученные в результате захвата нейтронов бором, рассчитывали с использованием кода NMC. Поглощенные дозы гамма-излучения измеряли дозиметром смешанного излучения.

Результаты. Проведен анализ жизнеспособности борсодержащих и интактных клеток линий глиом человека U251 и T98G и клеток китайского хомячка CHO-K1 и V-79 после облучения нейтронным пучком. Показано, что облучение клеток всех четырех линий, культивируемых в присутствии ^{10}B , уменьшает их колониобразующую способность по сравнению с контролем. Повышение содержания бора в ростовой среде приводит к достоверному уменьшению доли выживших клеток. Наиболее выраженное влияние облучения на способность к пролиферации наблюдается для клеток глиомы человека линии U251.

Заключение. На культурах опухолевых клеток человека и клеток млекопитающих показано, что поток нейтронов, формируемый на созданном в ИЯФ им. Г.И. Будкера ускорительном источнике эпителиальных нейтронов, эффективно снижает жизнеспособность опухолевых клеток в присутствии ^{10}B .

Ключевые слова: бор-нейтронозахватная терапия; ускорительный источник нейтронов; линии опухолевых клеток глиом человека.

Для цитирования: Волкова О.Ю., Мечетина Л.В., Таранин А.В., Заборонок А.А., Nakai K., Lezhnin S.I., Фролов С.А., Касагов Д.А., Макаров А.Н., Сорокин И.Н., Сычева Т.В., Шудло И.М., Таскаев С.Ю. Влияние нейтронного излучения на жизнеспособность опухолевых клеток, культивируемых в присутствии изотопа бора ^{10}B . *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2016; 97 (5): 283–8. DOI: 10.20862/0042-4676-2016-97-5-283-288

Для корреспонденции: Волкова Ольга Юрьевна; E-mail: volkova@mcb.nsc.ru

Objective: to investigate the impact of a neutron beam formed with the accelerator-based epithermal neutron source designed at the G.I. Budker Institute of Nuclear Physics (INP) on the viability of human and animal tumor cells cultured in the presence of boron-10 isotope.

Material and methods. Human U251 and T98G glioma cells and Chinese hamster CHO-K1 and V-79 cells were incubated at various concentrations in the culture medium containing ^{10}B -enriched L-boronophenylalanine. The cells were irradiated with a neutron beam using the accelerator-based epithermal neutron source. A clonogenic assay was used to evaluate the viability of the irradiated cells. The absorbed doses obtained from elastic scattering of fast neutrons by substance nuclei and the doses obtained from boron neutron capture were calculated using the NMC code. The absorbed doses of gamma-radiation were measured with a mixed radiation dosimeter.

Results. The viability of boron-containing and intact human U251 and T98G cell lines and Chinese hamster CHO-K1 and V-79 cells was analyzed after neutron beam radiation. Irradiation of all four cell lines were cultured in the presence of ^{10}B was shown to reduce their colony-forming capacity compared with the control. Elevated boron levels in the culture medium resulted in a significant decrease in the proportion of survived cells. Radiation had the most pronounced impact on the proliferative capacity of the human U251 glioma cell lines.

Conclusion. The cultures of human tumor cells and mammalian cells demonstrated that the neutron beam formed with the accelerator-based epithermal neutron source designed at the INP, was effective in reducing the viability of tumor cells in the presence of ^{10}B .

Index terms: boron neutron capture therapy; accelerator-based neutron source; human glioma tumor cell lines.

For citation: Volkova O.Yu., Mechetina L.V., Tarantin A.V., Zaboronok A.A., Nakai K., Lezhnin S.I., Frolov S.A., Kasatov D.A., Makarov A.N., Sorokin I.N., Sycheva T.V., Shchudlo I.M., Taskaev S.Yu. 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): 283–8 (in Russ.). DOI: 10.20862/0042-4676-2016-97-5-283-288

For correspondence: Olga Yu. Volkova; E-mail: volkova@mcb.nsc.ru

Information about authors:

Volkova O.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-8329-7182>
Mechetina L.V., <http://orcid.org/0000-0001-6785-2919>
Tarantin A.V., <http://orcid.org/0000-0002-9184-4238>
Zaboronok A.A., <http://orcid.org/0000-0002-6833-9866>
Nakai K., <http://orcid.org/0000-0002-0702-2304>
Lezhnin S.I., <http://orcid.org/0000-0002-0903-7016>
Frolov S.A., <http://orcid.org/0000-0001-5027-3582>
Kasatov D.A., <http://orcid.org/0000-0001-5649-524X>
Makarov A.N., <http://orcid.org/0000-0002-2020-0793>
Sorokin I.N., <http://orcid.org/0000-0002-2164-3318>
Sycheva T.V., <http://orcid.org/0000-0002-7613-9952>
Shchudlo I.M., <http://orcid.org/0000-0002-8130-5249>
Taskaev S.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-5313-2563>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements. A study carried out by the grant of the Russian Science Foundation (project № 14-32-00006) with the support of the G.I. Budker Institute of Nuclear Physics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Received 24 March 2016

Accepted 20 April 2016

Введение

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) – перспективный метод противоопухолевой терапии, основанный на накоплении

в опухоли стабильного изотопа бора ^{10}B и последующем облучении эпителиальными нейтронами [1, 2]. В результате поглощения нейтрона бором происходит

ядерная реакция с большим выделением энергии в клетке, что приводит к ее гибели. Проведенные на ядерных реакторах клинические испытания показали,

что БНЗТ позволяет лечить глиобластомы мозга, метастазирующие меланомы и ряд других злокачественных опухолей [2]. Для широкого внедрения методики в клиническую практику требуются источники эпитепловых нейтронов на основе ускорителя заряженных частиц. Разработка ускорительных источников эпитепловых нейтронов, наиболее приемлемых для БНЗТ, ведется во многих научных центрах – в Университете Нагоя (Япония) [3], Университете Цукуба (Япония) [4], Национальном онкологическом центре в Токио [5] и в Институте ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН в Новосибирске [6].

Целью исследования являлось изучение влияния потока нейтронов, формируемого на ускорительном источнике эпитепловых нейтронов ИЯФ им. Г.И. Будкера, на жизнеспособность опухолевых клеток человека и клеток млекопитающих в присутствии изотопа ^{10}B . В качестве агента доставки бора в исследованиях использован один из рекомендованных для БНЗТ препаратов – обогащенный изотопом ^{10}B L-р-борфенилаланин (ВРА), характеризующийся низкой токсичностью и обеспечивающий достаточное содержание бора в опухолевых клетках [7–11]. Клинические испытания БНЗТ с использованием ВРА продемонстрировали терапевтическую эффективность и хорошую переносимость пациентами этого препарата [12–14].

Работа выполнена на ускорительном источнике эпитепловых нейтронов ИЯФ им. Г.И. Будкера с использованием ВРА в качестве агента для доставки ^{10}B в культивируемые *in vitro* опухолевые клетки.

Материал и методы

Клеточные культуры. Линии клеток глиомы человека U251, клеток глиобластомы человека T98G, клеток яичника китайского хомячка СНО-K1 и фибро-

бластов легкого китайского хомячка V-79 были получены из Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клетки этих линий культивировали в среде Iscove's DMEM (Sigma-Aldrich, США), с добавлением 10%-й эмбриональной сыворотки телят (Hyclone, Thermo Scientific, Великобритания) и 1%-го раствора антибиотиков и антимикотиков Antibiotic Antimycotic Solution (Sigma-Aldrich, США), при 37 °С, во влажной атмосфере, содержащей 5% CO_2 . Культуры клеток пересеивали в соотношении 1:3 (клетки человека) и 1:5 (клетки китайского хомячка) с помощью раствора, содержащего 0,25% трипсина и 1 мМ этилендиаминотетрауксусной кислоты (ЭДТА).

В качестве борсодержащего соединения использовали L-борфенилаланин (ВРА), обогащенный изотопом ^{10}B (>99,5% ^{10}B , Katchem Ltd., Чехия), приготовленный по методу, описанному К. Yoshino et al. [15]. Для получения растворимого препарата к 0,25 М раствору D(-)-фруктозы (Sigma-Aldrich, США) добавляли борфенилаланин до концентрации 0,1 М и доводили рН раствора до 9,5 с помощью 1 М NaOH. Затем раствор перемешивали до полного растворения борфенилаланина, доводили рН до 7,2 с помощью 1 М HCl и стерилизовали фильтрацией через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм. Готовый стоковый раствор содержал борфенилаланин в концентрации 20 мг/мл (концентрация ^{10}B – 1100 мкг/мл, или 1100 ppm).

Инкубация клеток с борфенилаланином. Клетки линий U251, T98G, СНО-K1 и V-79 в экспоненциальной фазе роста высевали в культуральные флаконы (площадь 25 см², ТРР, Швейцария) в количестве 10⁶ клеток на флакон. Через 24 ч в культуральные флаконы добавляли раствор ВРА и инкубировали клетки каждой линии в среде, содержащей ^{10}B в концентрациях

10, 20, 40 и 100 ppm, в течение 2 ч. Контрольные клетки инкубировали в среде, не содержащей ^{10}B . После инкубации в борсодержащей среде клетки собирали в центрифужные пробирки, осаждали центрифугированием, переносили в полипропиленовые пробирки и облучали потоком нейтронов.

Облучение клеток потоком нейтронов проводили на ускорительном источнике эпитепловых нейтронов ИЯФ им. Г.И. Будкера, включающем ускоритель-тандем с вакуумной изоляцией и литиевую нейтроногенерирующую мишень [6, 16]. Клетки помещали внутрь фантома из оргстекла диаметром 200 мм высотой 220 мм на глубину 24 мм от верхней поверхности. Фантом устанавливали под нейтроногенерирующую мишень [17] по оси на расстоянии 10 мм от низа мишени. Облучение проводили в течение 40 мин при токе протонного пучка 1,5 мА, энергии 2 МэВ. Для контроля стабильности генерации нейтронов использовали детектор нейтронов с литийсодержащим сцинтиллятором GS20 производства Saint-Gobain Crystals (США). Поглощенная доза, полученная в результате упругого рассеяния быстрых нейтронов на ядрах вещества, и поглощенная доза, полученная в результате захвата нейтронов бором, рассчитана с использованием кода NMC [18], моделирующего перенос нейтронов в трехмерной геометрии и использующего базу данных сечений ENDF-VII. Поглощенная доза гамма-излучения измерена дозиметром смешанного излучения ДВГН-01 [19].

Клоногенный анализ. Для оценки цитотоксичности ВРА использовали клоногенный тест, основанный на подсчете количества колоний, образуемых выжившими клетками [20]. После инкубации в борсодержащей среде клетки подсчитывали в гемоцитометре (NanoEnTek, США) и высевали по 200 клеток на пять чашек Петри диаметром 6 см

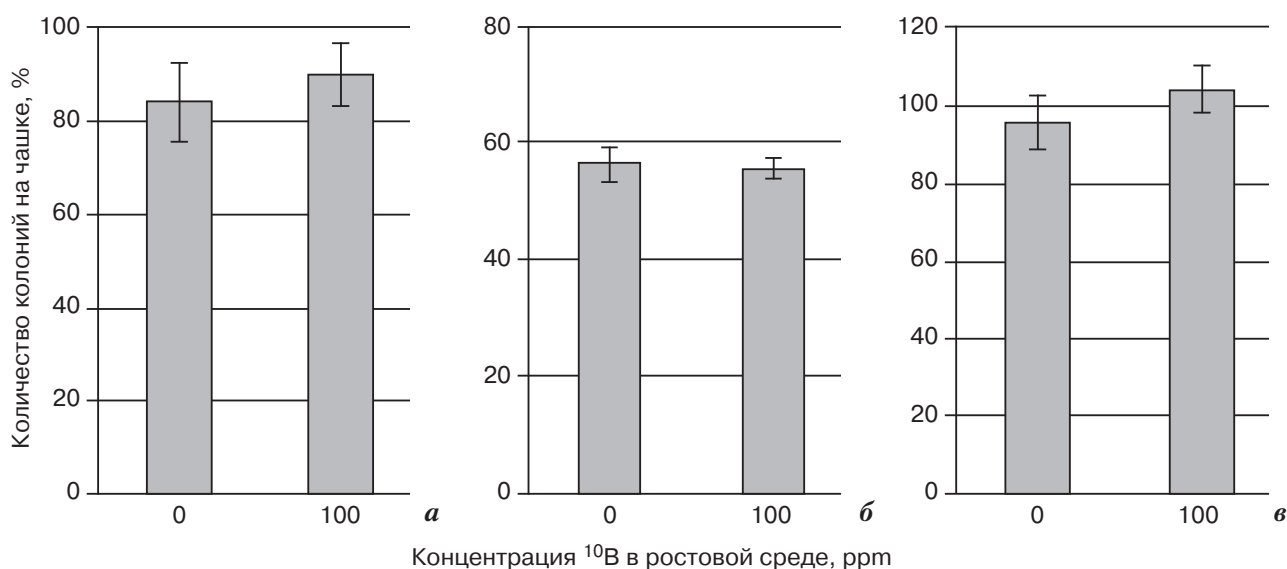


Рис. 1. Результаты анализа цитотоксичности борфенилаланина для клеток линий U251 (а), T98G (б) и V-79 (в), проведенного с помощью клоногенного теста

(TPP, Швейцария). Затем культивировали клетки в течение 10–14 сут. Образовавшиеся колонии фиксировали 6%-м раствором глутарового альдегида (Sigma-Aldrich, США), окрашивали 0,5%-м кристаллическим фиолетовым (Вектон, Россия) и подсчитывали визуально.

Для оценки влияния нейтронного излучения на жизнеспособность клеток, инкубированных в среде с ^{10}B , клоногенный анализ проводили после облучения клеток. Контрольные клетки без бора высевали по 200 клеток на чашку, клетки, инкубированные с ^{10}B в концентрации 10, 20 и 40 ppm – по 500, 1000 и 2000 клеток на чашку соответственно. На каждую концентрацию бора и контроль брали по пять чашек. Результаты клоногенного теста представляли в виде доли образовавшихся на чашке колоний от числа высеянных клеток. После подсчета колоний статистичес-

кую обработку полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты

Для оценки цитотоксичности используемого препарата ВРА был проведен клоногенный анализ клеток глиомы человека U251, клеток глиобластомы человека T98G и фибробластов легкого китайского хомячка V-79 после их инкубации с ВРА в течение 2 ч. Из рисунка 1 видно, что внесение ВРА в ростовую среду в концентрации, соответствующей 100 ppm ^{10}B , не влияет на эффективность образования колоний и, соответственно, не приводит к снижению жизнеспособности клеток U251, T98G и V-79.

Далее клетки линий U251, T98G, СНО-K1 и V-79, предварительно инкубированные в среде с концентрацией бора 10, 20 и 40 ppm, облучали потоком нейтронов. Одновременно облучали

контрольные клетки, инкубированные в среде без ^{10}B . Данные концентрации ^{10}B были выбраны на основании того, что они не являются цитотоксичными для клеток человека и млекопитающих. Кроме того, ранее было показано, что при использовании ^{10}B в концентрациях от 10 до 40 ppm происходит накопление бора в клетках [21–23]. Значения поглощенных доз для используемых концентраций бора приведены в таблице.

С помощью клоногенного теста проведен анализ жизнеспособности борсодержащих и интактных клеток линий U251, T98G, СНО-K1 и V-79 после облучения нейтронным пучком. Результаты представлены на рисунке 2. Согласно полученным данным, для всех линий происходит подавление колониеобразующей способности и, соответственно, уменьшение доли выживших облученных клеток при наличии

Зависимость поглощенной дозы облученных клеток от содержания ^{10}B в ростовой среде

Концентрация ^{10}B в ростовой среде, ppm	Поглощенная доза, Гр			
	реакции $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$	от быстрых нейтронов	от гамма-излучения	суммарная
0	0	0,9	0,4	1,3
10	1,2	0,9	0,4	2,5
20	2,4	0,9	0,4	3,7
40	4,8	0,9	0,4	6,1

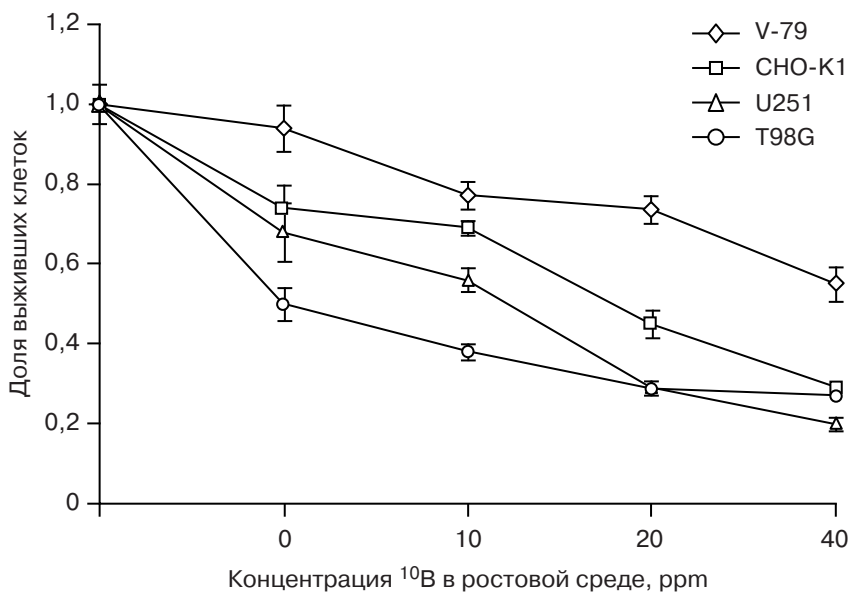


Рис. 2. Зависимость выживаемости облученных нейтронами клеток U251, T98G, CHO-K1 и V-79 от концентрации бора в ростовой среде, полученная по данным клоногенного теста

бора в ростовой среде. Колониеобразующая способность понижена и у контрольных клеток, которые не инкубировались в борсодержащей среде, но облучались потоком нейтронов, что объясняется действием сопутствующего гамма-излучения и быстрых нейтронов. Кроме того, известно, что клетки стабильных линий характеризуются не абсолютной эффективностью клонирования (от 50% для клеток глиобластом до 80% для клеток V-79 и до 90% для клеток CHO-K1) (<http://www.lgcstandards-atcc.org>).

Анализ данных, представленных на рисунке 2, свидетельствует об усилении репродуктивной гибели клеток при увеличении дозы, полученной клетками в результате поглощения бором нейтронов. Повышение содержания бора в ростовой среде у всех линий клеток приводит к достоверному ($p < 0,05$) уменьшению доли выживших облученных клеток с бором по сравнению с долей выживших после облучения контрольных клеток без бора. При увеличении концентрации ¹⁰B до 40 ppm способность к пролиферации сохранили только 33% клеток U251, 43,5% клеток CHO-K1, 49% клеток V-79 и 54% клеток T98G по сравнению с кон-

трольными клетками. Наиболее выраженное влияние облучения на способность к пролиферации наблюдается для клеток глиомы человека линии U251. При облучении клеток этих линий, предварительно инкубированных с ¹⁰B в концентрации 40 ppm и получивших дозу 6,1 Гр, доля выживших клеток уменьшается в 3 раза по сравнению с долей выживших облученных клеток, не содержащих бора. С учетом данных таблицы полученные результаты свидетельствуют о том, что способность к пролиферации клеток подавляется пропорционально поглощенной дозе, полученной клетками при облучении.

Обсуждение

Бор-нейтронозахватная терапия является перспективным методом в лечении опухолей головного мозга, что объясняется трудностями их лечения традиционными методами. Основная проблема связана с такими особенностями, как инфильтративный характер роста этих опухолей, отсутствие четких границ распространения и возможность появления рецидивных опухолей [24]. Культуры стабильных линий опухолевых клеток глиобластом являются простой и вполне

адекватной моделью для проведения исследований, направленных на развитие БНЗТ [9–11].

В данной работе, посвященной оценке эффективности БНЗТ на ускорительном источнике эпитепловых нейтронов, мы использовали опухолевые линии клеток глиобластом человека U251 и T98G. Также в качестве моделей *in vitro* мы использовали линии клеток китайского хомячка CHO-K1 и V-79. Выбор последних двух линий обусловлен тем, что они широко применяются в радиационной биологии для исследования механизмов клеточной гибели после воздействия ионизирующего излучения, в том числе после воздействия на клетки потока нейтронов [21, 25, 26]. Для всех четырех линий показано достоверное подавление пролиферативной способности облученных клеток. Наибольший эффект наблюдался для глиомы U251, которая, как было отмечено, обладает повышенной по сравнению с другими линиями способностью накапливать в клетках ¹⁰B [27]. Полученные на *in vitro* моделях результаты показывают, что увеличение концентрации ¹⁰B в ростовой среде ведет к снижению жизнеспособности облученных потоком нейтронов клеток. С учетом полученных данных об отсутствии токсичности препарата ВРА в использованных концентрациях можно сделать вывод о том, что репродуктивная гибель клеток линий U251, T98G, CHO-K1 и V-79 обусловлена повреждающим действием излучения при проведении БНЗТ.

Заключение

На культурах опухолевых клеток человека и клеток млекопитающих впервые показано, что поток нейтронов, формируемый на созданном в ИЯФ им. Г.И. Будкера ускорительном источнике эпитепловых нейтронов, эффективно снижает жизнеспособность опухолевых клеток в присутствии ¹⁰B. Экспериментальные модели *in vitro*, предложенные

в работе, будут использованы для дальнейших экспериментов, направленных на развитие и совершенствование бор-нейтронозахватной терапии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-32-00006) при поддержке Института ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН.

Литература / References

- Locher G.L. Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther.* 1936; 36: 1–13.
- Sauerwein W., Wittig A., Moss R., Nakagawa Y. (eds). Neutron capture therapy: principles and applications. Springer; 2012.
- Tsuchida K., Kiyonagi Y., Uritani A., Watanabe K., Shimizu H., Hirota K. et al. Development of an accelerator-driven compact neutron source for BNCT in Nagoya University. In: Book of abstracts of the 16 International Congress on Neutron Capture Therapy. 2014, June 14–19; Helsinki, Finland: 206–7.
- Kumada H., Kurihara H., Yoshio-ka M., Kobayashi H., Matsumoto H., Sugano T. et al. Development of beryllium-based neutron target system with three-layer structure for accelerator-based neutron source for boron neutron capture therapy. *Appl. Radiat. Isot.* 2015; 106: 78–83.
- Abe Y., Fuse M., Fujii R., Nakamura M., Imahoru Y., Itami J. Hospital-based boron neutron capture therapy in National Cancer Center. An installation design for the accelerator-based epithermal neutron source. In: Abstracts of 15th International Congress on Neutron Capture Therapy. 2012, Sept. 10–14; Tsukuba, Japan: 109–10.
- Таскаев С.Ю. Ускорительный источник эпитепловых нейтронов. *Физика элементарных частиц и атомного ядра.* 2015; 46 (6): 1770–830. [Taskaev S.Yu. Accelerator based epithermal neutron source. *Fizika Elementarnykh Chastits i Atomnogo Yadra (Physics of Elementary Particles and Atomic Nuclei, Russian journal).* 2015; 46 (6): 1770–830 (in Russ.).]
- Wittig A., Huiskamp R., Moss R., Bet P., Kriegeskotte C., Scherag A. et al. Biodistribution of (^{10}B) for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) in a mouse model after injection of sodium mercaptoundecahydro-closo-dodecaborate and l-para-boronophenylalanine. *Radiat. Res.* 2009; 172 (4): 493–9.
- Wittig A., Moss R., Sauerwein W. Glioblastoma, brain metastases and soft tissue sarcoma of extremities: candidate tumors for BNCT. *Appl. Radiat. Isot.* 2014; 88: 46–9.
- Sun T., Zhou Y., Xie X., Chen G., Li B., Wei Y. et al. Selective uptake of boronophenylalanine by glioma stem/progenitor cells. *Appl. Radiat. Isot.* 2012; 70 (8): 1512–8.
- Wittig A., Sauerwein W., Coderre J. Mechanisms of transport of p-boronophenylalanine through the cell membrane in vitro. *Radiat. Res.* 2000; 153 (2): 173–80.
- Yasui L., Kroc T., Gladden S., Andorf C., Bux S., Hosmane N. Boron neutron capture in prostate cancer cells. *Appl. Radiat. Isot.* 2012; 70 (1): 6–12.
- Yamamoto T., Nakai K., Kageji T., Kumada H., Endo K., Matsuda M. et al. Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma. *Radiother. Oncol.* 2009; 91 (1): 80–4.
- Kankaanranta L., Seppala T., Koivunoro H., Valimaki P., Beule A., Collan J. et al. L-boronophenylalanine-mediated boron neutron capture therapy for malignant glioma progressing after external beam radiation therapy: a Phase I study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2011; 80 (2): 369–76.
- Wadabayashi N., Honda C., Mishima Y., Ichihashi M. Selective boron accumulation in human ocular melanoma vs surrounding eye components after ^{10}B -p-boronophenylalanine administration. Prerequisite for clinical trial of neutron-capture therapy. *Melanoma Res.* 1994; 4 (3): 185–90.
- Yoshino K., Suzuki A., Kakihana H., Honda C., Mishima Y., Kobayashi T. et al. Improvement of solubility of p-boronophenylalanine by complex formation with monosaccharides. *Strahlenther. Onkol.* 1989; 165 (2–3): 127–9.
- Иванов А.А., Касатов Д.А., Кошкарев А.М., Макаров А.Н., Остреинов Ю.М., Сорокин И.Н. и др. Получение протонного пучка с током 5 мА в ускорителе-гандеме с вакуумной изоляцией. *Письма в Журнал технической физики.* 2016; 42 (12): 1–8. [Ivanov A.A., Kasatov D.A., Koshkarev A.M., Makarov A.N., Ostreynov Yu.M., Sorokin I.N. et al. Generation of the proton beam of 5 mA on a tandem accelerator with vacuum insulation. *Pis'ma v Zhurnal Tekhnicheskoy Fiziki (Technical Physics Letters, Russian journal).* 2016; 42 (12): 1–8 (in Russ.).]
- Bayanov B., Kashaeva E., Makarov A., Malyshkin G., Samarin S., Taskaev S. A neutron producing target for BINP accelerator-based neutron source. *Appl. Radiat. Isot.* 2009; 67 (7–8): 282–4.
- Yurov D., Anikeev A., Bagryan-sky P., Brednikhin S., Frolov S., Lezhnin S. et al. Parameters optimization in a hybrid system with a gas dynamic trap based neutron source. *Fusion Eng. Des.* 2012; 87 (9): 1684–92.
- Санников А.В., Лебедев В.Н., Кустарев В.Н., Савицкая Е.Н., Спиринов Е.Г. Индивидуальный дозиметр смешанного излучения ДВГН-01: Разработка и исследование характеристик. Препринт ИФВЭ 2005-6. Протвино; 2005. [Sannikov A.V., Lebedev V.N., Kustarev V.N., Savitskaya E.N., Spirov E.G. The individual dosimeter of mixed radiation DVGN-01: development and study of characteristics. IHEP Preprint 2005-6. Protvino; 2005 (in Russ.).]
- Franken N., Rodermond H., Stap J., Haveman J., Bree C. Clonogenic assay of cells in vitro. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (5): 2315–9.
- Yoshida F., Matsumura A., Shibata Y., Yamamoto T., Nakauchi H., Okumura M. et al. Cell cycle dependence of boron uptake from two boron compounds used for clinical neutron capture therapy. *Cancer Lett.* 2002; 187 (1–2): 135–41.
- Sato E., Yamamoto T., Shikano N., Ogura M., Nakai K., Yoshida F. et al. Intracellular boron accumulation in CHO-K1 cells using amino acid transport control. *Appl. Radiat. Isot.* 2014; 88: 99–103.
- Yoshida F., Yamamoto T., Nakai K., Zaboronok A., Matsumura A. Additive effect of BPA and Gd-DTPA for application in accelerator-based neutron source. *Appl. Radiat. Isot.* 2015; 106: 247–50.
- Van Meir E.G., Hadjipanayis C.G., Norden A.D., Shu H.K., Wen P.Y., Olson J.J. Exciting new advances in neuro-oncology: the avenue to a cure for malignant glioma. *Cancer J. Clin.* 2010; 60 (3): 166–93.
- Okumura K., Kinashi Y., Kubota Y., Kitajima E., Okayasu R., Ono K. et al. Relative biological effects of neutron mixed-beam irradiation for boron neutron capture therapy on cell survival and DNA double-strand breaks in cultured mammalian cells. *J. Radiat. Res.* 2013; 54 (1): 70–5.
- Kinashi Y., Takahashi S., Kashino G., Okayasu R., Masunaga S., Suzuki M. et al. DNA double-strand break induction in Ku80-deficient CHO cells following Boron Neutron Capture Reaction. *Radiat. Oncol.* 2011; 5 (6): 106.
- Wang P., Zhen H., Jiang X., Zhang W., Cheng X., Guo G. et al. Boron neutron capture therapy induces apoptosis of glioma cells through Bcl-2/Bax. *BMC Cancer.* 2010; 2 (10): 661.

Поступила 24.03.2016
Принята к печати 20.04.2016