

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**“DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS E PREPARAÇÃO DE
MICROESFERAS DE POLÍMERO E RESINAS MARCADAS
COM HÓLMIO-166”**

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para a obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientador:
Dr. João Alberto Osso Jr.

São Paulo
2008

***Este trabalho é dedicado ao meu
orientador, Dr. João Alberto
Osso Jr. e aos meus pais,
Neli Ferreira Costa e
Gilberto João Costa,
pelo carinho, amor e estímulo.***

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. João Alberto Osso Junior , agradeço por todo apoio, compreensão, amizade, por acreditar no meu trabalho, pela sua orientação, por ser responsável por uma parte do meu crescimento como um todo. Serei eternamente grata.

Aos meus pais, Neli Ferreira Costa e Gilberto João Costa, não existem palavras para possa expressar todo o meu sentimento. Agradeço pelo carinho, compreensão do meu trabalho.

Às amigas, MSc. Carla Roberta Dias, MSc. Giovana Pasqualini da Silva, Kátia Noriko Susuki, Graciela Barrio, MSc. Samanta Etel Borborema e Tânia Brambilla pela amizade e, principalmente, pelo respeito entre nós e a nossa união.

Às amigas, Angélica Barbezan , Dra. Bárbara Szot, Paula Lopes e Dra. Vanessa Moraes, pela amizade, apoio e conhecimentos compartilhados.

Aos amigos bolsistas que encontrei no Centro de Radiofarmácia, pela amizade e apoio durante esses anos.

Ao Dr. José Roberto Martinelli, por me ajudar, principalmente na ausência do Dr. João A. Osso Jr., em especial, meu agradecimento pelas contribuições na defesa da tese.

À Dra. Tatiana Lavinias de Moraes por todas as contribuições na defesa da tese, por ser uma profissional surpreendente.

Ao meu namorado Fernando Pradella por todo carinho durante a elaboração do trabalho.

À minha querida irmã Giuliana Ferreira Costa Braga, pelo apoio e carinho.

Aos funcionários do Centro de Radiofarmácia, em especial, MSc. Nestor da Silva pela amizade e tarefas prestadas no laboratório, Wagner Nieto, agradeço aos projetos criados por ele e Wilson Scapim, agradeço ao apoio.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP) por possibilitar a realização do trabalho.

À CNEN, pelo apoio financeiro durante todo o período do meu trabalho.

À todos aqueles que me apoiaram neste projeto.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE MICROESFERAS DE POLÍMERO E RESINAS MARCADAS COM HOLMIO-166

Renata Ferreira Costa

RESUMO

A expansão do desenvolvimento de radionuclídeos para uso em terapia de tumores, permite que técnicas de tratamento de tumores sejam mais seletivas e adequadas. Novos agentes têm como finalidade reduzir o tempo de tratamento e acelerar o tempo de recuperação de muitos pacientes. O principal objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de microesferas de ácido láctico e resina marcadas com Hólmio-166, para que se obtenha um radiofármaco que possa oferecer um tratamento localizado do tumor e, portanto para que se tenha a máxima irradiação do tumor e a diminuição dos efeitos de toxicidade nos tecidos adjacentes saudáveis. A metástase hepática é a principal causa de morte de pacientes com câncer de colo retal, para estes pacientes a resposta da quimioterapia e da radioterapia é baixa. Uma alternativa é a radioterapia interna seletiva utilizando microesferas marcadas com Hólmio-166, um emissor β ($E_{\max}=1,84$ MeV), com um alcance máximo no tecido de 8,4mm e emissor de fótons (81 keV, 6,2%), apropriado para a aquisição de imagens. A produção de Hólmio-166 é possível no reator nuclear IEA-R1 (IPEN-CNEN/SP), um reator de pesquisa com baixo fluxo de nêutrons. O Hólmio tem uma abundância de 100% na natureza e seção de choque de 64 barns. Isso permite produzir uma atividade de 344mCi (~ 12 GBq) (reator IEA-R1, 60 horas, $4,0 \times 10^{13} \text{ n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$), o suficiente para produção de doses terapêuticas. As resinas de troca catiônica, AG50W-X2, AG50W-X8, Amberlite, Sephadex e Sepharose, foram marcadas com ^{166}Ho . Todas elas apresentaram um ótimo resultado de marcação. As resinas AG50W-X2, AG50W-X8, Amberlite e Sephadex não têm o tamanho de partícula ideal para terapia de tumores hepáticos, porém foi proposto que partículas com tamanho entre 100-450 μm podem ser usadas no tratamento de tumores de cabeça e pescoço. A resina Sepharose tem as características essenciais para terapia de tumores hepáticos. Entretanto, estudos *in vivo* devem ser realizados para comprovar a sua eficácia. O preparo das microesferas de ácido láctico não foi bem sucedido, mas a primeira fase da preparação apresentou bons resultados.

DEVELOPMENT OF METHODS OF PREPARATION OF POLYMER-BASED AND RESIN-BASED MICROSPHERES LABELED WITH HOLMIUM-166

Renata Ferreira Costa

ABSTRACT

A surge in research activity is expanding the applications for therapeutic radiopharmaceuticals, which are employing more sophisticated targeting methodologies and more appropriate therapeutic isotopes for the tumors being treated. These new agents will reduce treatment time and accelerate recovery for many patients. The aim of this work is the development of resin-based and acid lactic-based microspheres labeled with ^{166}Ho , in order to obtain selective delivery of radioisotopes to the tumor, thus maximizing the irradiation effect while sparing toxicity to the surrounding healthy liver. Liver metastases cause the majority of deaths from colorectal cancer, and response to chemotherapy and external radiotherapy is poor. An alternative is an internal radionuclide therapy using microspheres labeled with ^{166}Ho , a beta minus emitter ($E_{\text{max}}=1.84$ MeV), with maximum tissue range 8.4 mm, that also emits photons (81keV, 6.2%) suitable for imaging. The production of ^{166}Ho is feasible in the IEA-R1 Reactor at IPEN-CNEN/SP, a low power reactor with low neutron fluxes. The nuclear reaction has a cross section of 64 barns and ^{165}Ho has a natural abundance of 100%. It is possible to produce 344 mCi ($\sim 12\text{GBq}$) (IEA-R1 Reactor, 60 hours, $4,0 \times 10^{13} \text{ n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$) a sufficient therapeutic dose, depending on the demand of doses. The cation exchange resins, AG50W-X2, AG50W-X8, Amberlite, Sephadex and Sepharose, were labeled with ^{166}Ho . All the resins showed a very good retention. Although AG50W-X2, AG50W-X8, Amberlite and Sephadex did not have the right particle size, it is suggested that particles of 100-450 μm could be used in the treatment of head-and-neck tumours. Sepharose labeled with ^{166}Ho has essential characteristics for treatment liver therapy. However, further *in vivo* studies should be performed to prove its effectiveness. The preparation of acid lactic-based microspheres was not successful, but the first step of the preparation was very effective.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	1
1.1- Medicina Nuclear	1
1.2- Anatomia e Fisiologia do Fígado	2
1.3 – Câncer de Fígado	3
1.3.1- Tratamentos	4
1.3.2- Incidência no Mundo	5
1.3.3- Incidência no Brasil	5
1.4- Modalidades de Tratamentos Convencionais	6
1.4.1- Ressecção Cirúrgica	6
1.4.2- Quimioterapia Sistêmica	7
1.4.3- Radioterapia Externa	7
1.4.4- Transplante Hepático	8
1.5- Modalidades de Tratamentos Alternativos	10
1.5.1- Agentes Quimioterápicos e Embolizantes	10
1.5.2- Ablação Tumoral	11
1.6- Aplicações Terapêuticas utilizando Radiofármacos	12
1.7- Hólmio	13
1.7.1- Produção de ¹⁶⁶ Ho	14
1.8- Terapia Interna Seletiva utilizando Microesferas	15
1.8.1- Materiais das Microesferas	16
1.9- Terapia com Radionuclídeos para Câncer de Fígado	16
1.9.1- Primeiras Aplicações de Microesferas Radioativas	17
1.9.2- Theraspheres®	19
1.9.2.1- Pesquisa Clínica	20
1.9.3- SIR-Spheres®	22
1.9.3.1- Pesquisa Clínica	23

1.9.4- Microesferas Marcadas com ^{166}Ho	26
1.9.5- Uso do Lipiodol para Terapia de Tumores Hepáticos	30
1.10- Microesferas Marcadas com outros Radioisótopos	31
1.11- Outros Fármacos Marcados com ^{166}Ho	32
1.12- Revisão de Literatura- Microesferas marcadas com ^{166}Ho	32
1.13 – Resinas de Troca iônica	34
1.13- Justificativa	36
2- OBJETIVO	38
3- MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1- Infra-estrutura e Equipamentos	39
3.2- Lista de Reagentes	39
3.3- Alvos de Hólmio	40
3.3.1-Medidas de Atividade de ^{166}Ho	41
3.3.2- Dissolução dos alvos de Ho_2O_3	42
3.3.3 - Dissolução do alvo de $\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	42
3.4- Microesferas de Resinas Catiônicas	42
3.4.1 - Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite marcadas com ^{166}Ho	43
3.4.2 – Resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ^{166}Ho	44
3.4.3 – Estimativa de Custo da Sepharose marcada com ^{166}Ho	45
3.5 - Desenvolvimento de Microesferas de Ácido Lático marcadas com ^{166}Ho	45
3.5.1 - 1ª Fase - Preparo do Acetilacetato de Ho (HoAcAc)	46
3.5.2 - 2ª Fase - Síntese das microesferas de Ácido Lático com Hólmio	46
4- RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
4.1 - Irradiações dos Alvos de Hólmio	47
4.1.2 - Dissolução do Ho_2O_3	48

4.2- Microesferas de Resinas Catiônicas marcadas com ^{166}Ho	49
4.2.1- Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite marcadas com ^{166}Ho	49
4.2.2 - Resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ^{166}Ho	53
4.2.3- Estimativa de Custo	60
4.3 - Desenvolvimento de Microesferas de Ácido Lático marcadas com ^{166}Ho	61
4.3.1 - 1ª Fase - Preparo do Acetilacetato de Ho (HoAcAc)	61
4.3.2 - 2ª Fase - Síntese das microesferas de Ácido Lático com Hólmio	64
5- CONCLUSÃO	67
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Propriedades do ^{166}Ho	14
TABELA 2. Padrões de atividade em que são vendidas as microesferas marcadas com ^{90}Y - Therasphere®	21
TABELA 3. Dose das SIR-Spheres® recomendada para os pacientes	25
TABELA 4. Características das Microesferas Marcadas com Radionuclídeos	29
TABELA 5. Características dos Radionuclídeos para Radioterapia Interna	29
TABELA 4. Características das Resinas Catiônicas empregadas neste trabalho	43
TABELA 5. Atividade Específica do ^{166}Ho Produzido no Reator Nuclear IEA-R1	47
TABELA 6. Condições de dissolução do Ho_2O_3	49
TABELA 7. Retenção do ^{166}Ho nas Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite	50
TABELA 8. Teste de Estabilidade das Resinas AG50W-X8 e Amberlite	50
TABELA 9. Distribuição do tamanho de Partícula das Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite	51
Tabela 10. Retenção do ^{166}Ho nas Resinas Sephadex e Sepharose	54
Tabela 11. Retenção do ^{166}Ho na Resina Sepharose	56
Tabela 12. Teste de Estabilidade das Resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ^{166}Ho	57
Tabela 13. Distribuição do Tamanho de Partícula da Resina Sephadex	58
TABELA 14 – Estimativa de custo aproximado do ^{166}Ho -Sepharose	60
TABELA 15. Rendimento da Reação de Formação do HoAcAc	62
TABELA 16. Distribuição do tamanho de Partícula do HoAcAc	63

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Anatomia do Fígado	2
FIGURA 2 - Campanha da ABTO incentivando a doação de órgãos no Brasil	9
FIGURA 3 - Ilustração das microesferas no fígado por embolia	17
FIGURA 4- Foto da embalagem da Therasphere® e recipiente com as microesferas de vidro marcadas com ⁹⁰ Y	19
FIGURA 5 – Foto da embalagem e do aspecto da SIR-Sphere®	23
FIGURA 6 - Localização do Port-a-Cath na artéria hepática via artéria gastroduodenal	24
FIGURA 7 – Foto do aparato utilizado nas aplicações da SIR-Spheres®, chamado de Perspex	25
FIGURA 8. Estrutura química de uma resina de troca iônica típica	35
FIGURA 9 – Alvo de Óxido de Hólmio em quartzo e invólucro de alumínio	40
FIGURA 10. As resinas AG50W-X2 e AG50W-X8 em colunas com placa porosa de vidro condicionadas com HCl 0,1N, H ₂ O e NaOH 0,1N	44
FIGURA 11. Distribuição Granulométrica – AG50W-X2	51
FIGURA 12. Distribuição Granulométrica – AG50W-X8	52
FIGURA 13. Distribuição Granulométrica – Amberlite	52
FIGURA 14- Aspecto físico da resina Amberlite triturada em comparação com a resina em seu aspecto normal esférico.	53
FIG.15- Foto da resina Amberlite antes e após a trituração, obtida em microscópio ótico.	53
FIGURA 16. Rejeito extraído do processo de marcação da resina Sepharose com ¹⁶⁶ Ho.	54
FIGURA 17. Rejeito extraído do processo de marcação da resina	56

Sepharose com ^{166}Ho .

FIGURA 18. Distribuição Granulométrica – Sephadex	58
FIGURA 19. Distribuição Granulométrica – Sepharose	59
FIGURA 20 - Foto da Sephadex antes e após ser marcada com ^{166}Ho , obtida em microscópio ótico	59
FIGURA 21. Foto da resina Sepharose obtida em microscópio ótico	60
FIGURA 22. Distribuição Granulométrica – HoAcAc	63
FIGURA 23. Aparato desenvolvido por Nijssen <i>et al.</i> para o desenvolvimento de microesferas de ácido láctico marcadas com ^{166}Ho	64
FIGURA 24. Aparato utilizado no desenvolvimento de microesferas de ácido láctico	65

1- INTRODUÇÃO

1- Medicina Nuclear

A Medicina Nuclear é o ramo da medicina especializada no uso de radionuclídeos para diagnóstico e terapia. Esta modalidade, baseada em radioisótopos e em princípios físicos, foi desenvolvida na década de 50. Um dos primeiros radioisótopos usado em Medicina Nuclear foi o Iodo-131 (^{131}I ; $E_{\beta\text{max}} = 606 \text{ keV}$, $I_{\beta} = 89,9\%$; $E_{\gamma} = 364 \text{ keV}$, $I_{\gamma} = 81,7\%$) utilizado para tratamento de doenças da tireóide, câncer da tireóide e hipertireoidismo [1].

O desenvolvimento da Medicina Nuclear tem uma importante contribuição de cientistas de diversas áreas como química, física, medicina, farmacologia, engenharia e tecnologia. A especificidade da medicina nuclear possibilita o diagnóstico e a terapia mais precisos, objetivos e úteis [2]. Um elemento radioativo é ligado a um grupo químico, sintetizando-se um radiofármaco que, por sua vez, apresenta afinidade por determinados tecidos patológicos ou não. Estes radiofármacos são administrados via oral, intravenosa, intracavitária ou por inalação [3].

Os radioisótopos emissores β são usados tanto para diagnóstico como para terapia, sendo que em altas doses são utilizados apenas para terapia. O ^{131}I é extensamente utilizado para ambas as técnicas, pois a energia depositada no tecido é maior em relação ao um radioisótopo emissor γ . Para que estes radioisótopos cheguem à região desejada é necessário que tenha afinidade natural ou que se ligue a um carregador que possa "transportá-lo" até os tecidos desejados.

Este trabalho tem como foco principal desenvolver microesferas (carregadoras) marcadas com um radioisótopo (^{166}Ho) para terapia de câncer de fígado, com o máximo de irradiação dos tecidos tumorais, sem agredir os órgãos adjacentes.

1.2- Anatomia e Fisiologia do Fígado

O fígado (FIG. 1) ocupa uma posição anatômica estratégica entre a circulação portal e sistêmica, assumindo importante papel nos sistemas de defesa orgânica e execução de diversas funções metabólicas. Pesa de 1.200-1.500 g e representa, em geral, cerca de 1/50 do peso corpóreo. Caracteristicamente o fígado é perfundido por sangue proveniente da veia porta, cujos ramos se prolongam até as veias hepáticas. Recebe ainda suprimento a partir da artéria hepática, rica em oxigênio, porém pobre em solutos. Esta dupla irrigação leva a ocorrência de um sistema típico de circulação, conferindo ao órgão:

- Heterogeneidade funcional, traduzida por hepatócitos morfologicamente semelhantes, porém funcionalmente diversos;
- Elevada capacidade metabólica de produtos intermediários, gerando oferta de solutos para órgãos distantes, como: cérebro, coração, rins e músculos;
- Capacidade de participar da circulação êntero-hepática, através da qual secreta substâncias que, posteriormente, são secretadas através da bile [4].

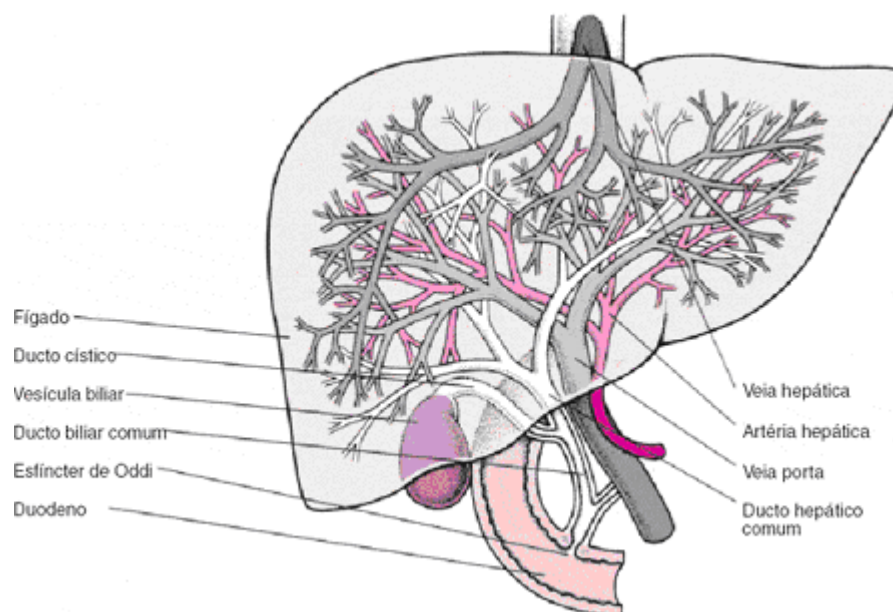


FIGURA 1 - Anatomia do Fígado [5]

Geralmente, o vaso aferente drena o sangue desoxigenado em direção ao coração, já que o fígado é o único órgão que recebe (parte do) sangue da artéria, neste caso, a artéria hepática. Este sangue é drenado pela via hepática e mais de 70% da irrigação sanguínea do fígado é derivada das veias, a veia portal, que transporta o sangue de grande parte da região abdominal e do trato gastrintestinal e do baço, pâncreas e vesícula biliar [4]. Um dos primeiros a realizar um estudo sistemático da vascularização de tumores intra-hepáticos foi Bierman *et al.* [6], que realizaram um estudo angiográfico da artéria hepática comum em pacientes, principalmente com tumores de fígado secundários e em pacientes com fígados não comprometidos. Concluíram que o fluxo sanguíneo em tumores vascularizados é significativamente maior do que no fígado sadio e, o mais importante, o transporte sanguíneo da neoplasia localizada no órgão é predominantemente originado na artéria hepática.

A nutrição sanguínea das neoplasias advém principalmente da artéria hepática, tanto nas lesões primárias do fígado como nas metástases. Este aspecto foi inicialmente comprovado por estudos que utilizaram técnicas de injeção e secções anatômicas. Através da injeção de materiais com isótopos radioativos, nutrientes apresentavam maior concentração intra-tumoral sempre que injetados por via arterial [7].

1.3- Câncer de Fígado

O fígado, em decorrência do seu posicionamento anatômico, recebe todo o sangue drenado do trato digestivo, tornando-se por isso um órgão propício à instalação de neoplasias, sobretudo as metastáticas que, em geral, são múltiplas e podem envolver um ou ambos os lobos hepáticos [7].

1.3.1- Tratamentos

Uma importante indicação que está recebendo atenção em pesquisa é câncer de fígado não ressecável que tem um grave prognóstico e é um problema médico presente em toda parte, uma vez que a quimioterapia sistêmica tem se mostrado relativamente ineficaz no tratamento de doenças malignas do fígado e o parênquima hepático apresenta uma intolerância às altas doses da radioterapia externa nos tecidos saudáveis. Novas modalidades de tratamento estão se evidenciando e introduzidas clinicamente. As terapias propostas podem ser categorizadas em três grupos [8]:

- Percutânea/ laparoscopia/intra-operatória e técnicas de ablação: ablação térmica (radiofrequência, laser, microondas, crioablação, injeção de etanol e braquiterapia intersticial);
- Técnicas localizadas: infusão arterial hepática, quimioembolização arterial transcater, terapia de radionuclídeos marcados com lipiodol, terapia de microesferas radioativas;
- Biológica e terapias alvos: anticorpos monoclonais, vacinas contra o câncer, inibidores angiogênicos e terapia genética.

A radioterapia interna seletiva é, relativamente, um novo método que pode ser aplicado em pacientes que tenham múltiplas ou grandes metástases, as quais não são apropriadas para ressecção cirúrgica ou técnicas de ablação. Esta terapia está relacionada com a aplicação de microesferas radioativas nos sítios de metástases hepáticas, que são supridas pelo fluxo sanguíneo. A radioterapia interna seletiva está sendo investigada para o tratamento de metástases hepáticas provenientes de carcinoma colo retal e outros tumores hepáticos por grupos de pesquisadores em todo mundo, com uma resposta positiva na ordem de 80-90% [7, 9-10].

1.3.2 – Incidência no Mundo

Os tumores hepáticos, tanto a primeira como a segunda incidência, apresentam altos indícios na população. A cada ano, no mundo todo, mais de 600.000 pessoas desenvolvem carcinoma hepatocelular (CHC) e câncer da árvore biliar (colangiocarcinoma). As metástases hepáticas apresentam uma maior incidência, originadas de outros tumores em outros órgãos e drenadas pela veia porta. As metástases, comumente, são provenientes do câncer colo retal, com, aproximadamente, um milhão de novos casos por ano [11].

A mortalidade é alta tanto para câncer de fígado primário como câncer colo retal. É eminente que 82% da prevalência dos casos de CHC são de países em desenvolvimento, apresentando uma alta incidência na África Subsariana, o leste e o sudeste Asiático. Este alto índice está relacionado com a alta prevalência de hepatite B e C. Em 1970, descreveu-se a associação positiva entre o CHC e testes positivos para hepatite B[12]. O CHC de vírus da hepatite C é o tumor maligno primitivo mais freqüente no fígado. Predomina no sexo masculino e tem tendência evolutiva para levar a morte no prazo de 3 a 6 meses, a partir do diagnóstico.

Em termos de incidência, o câncer de cólon e reto é a terceira causa mais comum de câncer no mundo em ambos os sexos e a segunda causa em países desenvolvidos. Os padrões geográficos são bem similares entre homens e mulheres, porém, o câncer de reto é cerca de 20 a 50% maior em homens na maioria das populações [13].

1.3.3- Incidência no Brasil

O número de casos novos de câncer de cólon e reto estimados para o Brasil no ano de 2008 é de 12.490 casos em homens e de 14.500 em mulheres. Estes valores correspondem a um risco estimado de 13 casos novos a cada 100 mil homens e 15 para cada 100 mil mulheres [14].

Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer de cólon e reto em homens é o terceiro mais freqüente na região Sudeste (19/100.000). Nas regiões Sul (21/100.000) e Centro-Oeste (10/100.000) ocupa a quarta posição. Nas regiões Nordeste (4/100.000) e Norte (3/100.000), ocupam a quinta e sexta posição, respectivamente. Para as mulheres é o segundo mais freqüente na região Sudeste (21/100.000), o terceiro mais freqüente nas regiões Sul (22/100.000), Centro-Oeste (11/100.000) e Nordeste (6/100.000), enquanto na região Norte (4/100.000) é o quinto mais freqüente [14].

O fator de risco mais importante para este tipo de neoplasia é a história familiar de câncer de cólon e reto e predisposição genética ao desenvolvimento de doenças crônicas do intestino (como as poliposes adenomatosas), além de uma dieta com base em gorduras animais, baixa ingestão de frutas, vegetais e cereais; assim como, consumo excessivo de álcool e tabagismo e a incidência de Hepatite B e C. A prática de atividade física regular está associada a um baixo risco de desenvolvimento do câncer de cólon e reto; além disso, a idade também é considerada um fator de risco, uma vez que tanto a incidência como a mortalidade aumenta com o aumento da idade [15].

1.4- Modalidades de Tratamentos Convencionais

1.4.1-Ressecção Cirúrgica

Ressecção hepática é opção de tratamento para câncer primário e secundário de fígado e o único tratamento que é potencialmente curativo, ainda que seja uma pequena porcentagem dos pacientes são elegíveis às intervenções cirúrgicas, isto é, tumores solitários ou um pequeno número deles e dependendo da localização do tumor. A respeito das metástases de câncer colo retal, foi estimado que a porcentagem de pacientes que são direcionados para o tratamento cirúrgico com a intenção de curar é na ordem de 20-30% [16].

1.4.2- Quimioterapia Sistêmica

Os CHC são conhecidos por resistirem a quimioterapia (QT) e, se considerar que não são ressecáveis, serão rapidamente fatais, caso não se especifique o tratamento dado, a média de sobrevida é de apenas 1,6 meses (excluindo o estágio de classificação) [17].

Porém, em publicações recentes, uma melhora considerável está sendo citada. Por exemplo, Llovet *et al.*[18] publicaram uma média de sobrevivência de 17 meses em 102 pacientes cirróticos com CHC não ressecável direcionados a tratamentos sintomáticos (até 60 meses, 77% dos pacientes morreram).

1.4.3-Radioterapia Externa

A radioterapia (RT) externa convencional é limitada pela tolerância hepática que é relativamente baixa, o fígado sadio pode tolerar uma fração de 30-35Gy [19]. Para se conseguir a eliminação total do tumor na RT externa é necessário, no mínimo, 50Gy, assim, a modalidade não é apropriada para o tratamento de malignidades intra-hepáticas [20,21]. Além disso, podem ocorrer doenças hepáticas induzidas pela radiação, uma severa doença que provoca a oclusão venosa, em alguns casos pode-se recuperar, mas pode levar à falência hepática. Este fato foi notado em 5-10% dos pacientes que receberam uma dose equivalente [22]. Outras doenças também podem ocorrer, como ascite e aumento das enzimas hepáticas [23].

A RT externa levou de 10-15 anos para alcançar um alto nível, devido ao desenvolvimento da radioterapia 3D (3DCRT) [8]. Esta técnica utiliza recursos computacionais para criar uma imagem tridimensional do tumor com múltiplos feixes de radiação podendo ser exatamente a forma do tumor até o contorno da área de tratamento. Em comparação com a radioterapia convencional, o 3DCRT permite uma alta dose de radiação no tumor e a diminuição da dose nos tecidos adjacentes sadios [24]. Recentemente, foi publicado que o 3DCRT é considerado a terapia mais segura e

importante com taxas de respostas substanciais com uma toxicidade aceitável [25]. Todavia, em outra recente publicação, os pacientes com câncer de fígado não-resssecável (câncer hepatobiliar primário e metástases de câncer colo retal) foram tratados com o 3DCRT e a infusão arterial de floxuridine (QT), este estudo sugeriu um benefício para a sobrevida do paciente com a combinação dos tratamentos [26]. A média de sobrevida em pacientes com CHC, colangiocarcinoma e câncer de colo retal metastático foi 15,2, 13,3 e 17,2 meses, respectivamente, sendo que 85% dos pacientes morreram. A aplicação desta técnica para o tratamento de câncer de fígado é limitada, pois é adequada apenas para tratamento de pacientes com um pequeno número de tumores e não é apropriada para o tratamento de doenças hepáticas difusas [27].

1.4.4-Transplante hepático

O número anual de transplantes hepáticos realizados nos Estados Unidos e na Europa é cerca de 5.000 e 4.000, respectivamente [28]. Em 2007, no Brasil, foram realizados 997 transplantes hepáticos [29].

Avanços em cuidados clínicos e em técnica cirúrgica permitiram melhora na sobrevida dos pacientes submetidos a transplante hepático. Nos últimos anos, vários serviços americanos e europeus relataram índices de sobrevida excepcionalmente elevados no primeiro ano pós-transplante, em torno de 85% [30]. A maioria das mortes ocorre no primeiro ano pós-transplante, particularmente nos primeiros três meses e é geralmente devida a disfunção primária do fígado, complicações técnicas e infecção [31]. No Brasil, onde a maioria dos serviços não realiza transplante hepático com regularidade e o número de transplantes e o tempo de seguimento dos pacientes são reduzidos, os dados de causa de óbito são escassos [32]. Porém, o Brasil dispõe do maior programa público de transplantes do mundo, em relação a outros países, tendo em vista a população brasileira que necessita do transplante hepático. Em 2003, foram realizados mais de 8.500 transplantes de órgãos e tendo ainda uma fila de

espera de quase 60 mil pessoas no mesmo ano. Trata-se de uma conquista incontestável do sistema de saúde brasileiro, mas alguns aprimoramentos são necessários [33].

Por outro lado, devido à carência de órgãos no país, o período de espera nessa situação era prolongado, ocorrendo progressão da cirrose e do CHC e realização do transplante em condições menos favoráveis. O risco de progressão do CHC durante o período em lista de espera, ultrapassando-se os critérios para indicação do transplante varia, em alguns estudos, de 20% a 50% [34].

A Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), em campanha “Preserve a Vida: Seja um Doador de Órgãos” (FIG. 2), faz a seguinte citação [35]: “Por mais evoluída que seja a tecnologia médica disponível e o funcionamento da estrutura hospitalar, não existe transplante sem o envolvimento da sociedade em todas as etapas do processo: quer seja no apoio às campanhas de esclarecimento público e de estímulo à doação de órgãos, no acompanhamento e controle das listas de espera, quer seja na compreensão e aceitação desde que obedecida os limites das fronteiras da bioética - dos avanços científicos que beneficiam a humanidade. Ao falarmos do envolvimento da sociedade não estamos nos referindo a algo abstrato. Estamos falando de nós próprios, pois somos nós, em última instância, os doadores de órgãos.”



FIGURA 2 - Campanha da ABTO incentivando a doação de órgãos no Brasil [35]

1.5- Modalidades de Tratamentos Alternativos

Os pacientes candidatos a terapias paliativas de tumores hepáticos devem preencher duas condições fundamentais [36]:

- Terem suas lesões confinadas ao parênquima hepático - uma das premissas das terapias loco-regionais é a obtenção de altas concentrações dos agentes terapêuticos no órgão envolvido, com pouca repercussão sistêmica das drogas utilizadas;
- As lesões hepáticas não devem apresentar possibilidade de cura.

1.5.1- Agentes Quimioterápicos e Embolizantes

As drogas para quimioterapia loco-regional devem apresentar duas características [36]:

- Devem ser rapidamente absorvidas pelo fígado (clareamento da primeira passagem), o que garante uma concentração 100 a 400 vezes superior à concentração sistêmica;
- A droga deve ser tanto mais efetiva quanto maior a sua concentração.

Dentre os agentes de oclusão temporária as maiores experiências são com o gelfoam, o álcool polivinílico (PVA) e o lipiodol. A recanalização ocorre geralmente em torno de duas a seis semanas (estudos em animais). Considera-se que o PVA é de oclusão permanente, porém, como sempre ocorre uma circulação parasítica que envolve as lesões tumorais, nenhum agente embolizante é realmente permanente [36].

O lipiodol é um agente embolizante oleoso, inicialmente utilizado como contraste diagnóstico, incluindo nos estudos do fígado. Atualmente existem evidências que suportam a combinação do lipiodol e partículas nas quimioembolizações

hepáticas. O lipiodol flui para as vênulas portais antes de entrar no leito tumoral. Ele é empurrado pelo fluxo arterial, obstruindo os *shunts* arterioportais. Com a adição de micropartículas, a lavagem do lipiodol é retardada, formando efeito sanduíche. Este efeito obstruiria o fluxo sanguíneo recíproco para a lesão, aprisionando o quimioterápico junto ao tumor [37]. Estudos clínicos comprovaram o efeito sinérgico da associação entre esses agentes e o quimioterápico, com maior necrose tumoral e prolongamento da sobrevida [38].

Os pacientes que melhor se beneficiam da quimioembolização hepática são aqueles que estão em estágio precoce da doença. Muitos pacientes são encaminhados para as terapias loco-regionais em fase avançada da doença, o que por si só afetaria o prognóstico deles. Vários fatores afetam a resposta e a sobrevida. Os resultados do tratamento regional dos tumores hepáticos podem ser avaliados com base na redução do tamanho das lesões, alívio dos sintomas e prolongamento no tempo de sobrevida[36].

A quimioembolização com 5-fluorouracil (5-FU) e dexorubicina mostrou-se eficaz no tratamento de metástases hepáticas de tumores gástricos, com taxa de sobrevida corrigida em 1 e 2 anos, respectivamente, de 92% e 53%, e sobrevida de cerca de 20 meses. Este resultado é comparável com o da ressecção cirúrgica [39].

A embolização transcater tem sido utilizada com Gelfoam ou com álcool polivinílico (PVA). Tem sido relatada melhora objetiva em 70% a 90% dos casos, com redução do nível sérico de hormônios e alívio dos sintomas. A combinação de embolização e 5-FU sistêmico têm mostrado resultados semelhantes, que persistem por pelo menos 18 a 24 meses [40].

1.5.2-Ablação Tumoral

Dentre as técnicas de ablação tumoral, destacam-se as que utilizam injeção intralesional de agentes químicos (álcool, solução salina e ácido acético) [36] e aquelas mediadas pela ação térmica (radiofrequência, laser, terapia com microondas e

crioterapia) [41,42]. Todos esses métodos induzem a morte celular por necrose de coagulação. Vários estudos demonstram bons resultados em promover a necrose completa; no entanto, o pequeno número de estudos randomizados e a variabilidade dos trabalhos publicados limitam a inclusão sistematizada dessas técnicas na prática clínica [43]. A maioria delas é realizada por via percutânea, sendo uma das vantagens dessa via a possibilidade de sedação consciente, reduzindo a morbidade e os custos [43,44]. Outras são executadas por laparotomia ou laparoscopia [45]. Todos esses tratamentos necessitam de métodos de imagem para localizar e atingir o tumor, monitorizar o tratamento e avaliar sua eficácia. A ultra-sonografia é o método mais utilizado para guiar os médicos durante os procedimentos, pelo fácil acesso, baixo custo e simplicidade [36,43]. Dentre essas técnicas destacam-se, hoje em dia, a injeção percutânea de álcool e a utilização da radiofrequência, como as terapias mais acessíveis de ablação tumoral.

1.6- Aplicações Terapêuticas utilizando Radiofármacos

O desenvolvimento de radionuclídeos para terapia vem sendo estudado, principalmente, para a área da oncologia. A terapia com radiofármacos existe a pelo menos 60 anos e oferece benefícios substanciais para pacientes com câncer, em particular, pacientes com câncer da tireóide. No mundo, um grande número de ensaios clínicos para tratamento de câncer primário utilizando radiofármacos está em desenvolvimento. O sucesso dos ensaios clínicos com radioterápicos aumentará a sua demanda nos próximos anos. Com o objetivo de encontrar as necessidades para uma futura expansão e suprir o crescimento da importante aplicação terapêutica de radiofármacos em medicina nuclear e oncologia, é importante desenvolver e manter uma constante confiabilidade da produção de radioterápicos com qualidade exigida e quantidades desejadas [46].

Um radioisótopo, para ser utilizado em terapia em Medicina Nuclear, deve apresentar algumas propriedades, tais como [47]:

- Minimizar os efeitos da irradiação em células sadias e concentrá-lo em células cancerígenas;
- Tempo de meia-vida entre algumas horas e 70 dias;
- Emissores beta (β^-) ou alfa (α) de alta energia ($E > 1 \text{ MeV}$);
- A razão radiação não penetrante/radiação penetrante deve ser a maior possível;
- Radiação gama associada de baixa energia é útil para aquisição de imagens e para estudos de biodistribuição;
- Produto de decaimento deve ser estável (ou não emitir radiação particulada);
- Alta atividade específica;

Radioisótopos como ^{131}I , ^{188}Re , ^{177}Lu , ^{90}Y e o ^{166}Ho apresentam características favoráveis para a utilização na radioterapia interna com radionuclídeos [48].

1.7 - Hólmio-166

As propriedades físicas do decaimento do Hólmio-166 (^{166}Ho) estão descritas na TAB. 1 [49,50].

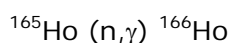
TABELA 1: Propriedades do ^{166}Ho

Forma encontrada na natureza	^{165}Ho
Numero Atômico	67
Classificação Periódica	Série dos Lantanídeos (terras-raras)
Produção	$^{165}\text{Ho} (n, \gamma) ^{166}\text{Ho}$.
Meia-vida Física	26,83 horas, decai para Érbio-166.
Energia de Radiação (γ)	0,081 MeV (6,24%) 1,379 MeV (0,93%)
Energia de Radiação (β)	Máxima 1,855 MeV (51%) Média 1,776 MeV (48%)
Alcance Máximo (β) no tecido	8,4 mm
Meia Espessura	Pb 9mm
Forma Química	Cloreto de Hólmio (em HCl 0,1 mol.L ⁻¹)
Pureza Radionuclídica	>99%

Como pode ser observado, o ^{166}Ho possui características físicas favoráveis para uso como um radioterápico.

1.7.1-Produção de ^{166}Ho

O hólmio é facilmente produzido pela reação de captura neutrônica, que ocorre em um Reator Nuclear:

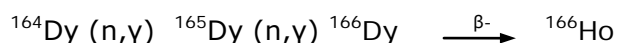


O Hólmio possui apenas um isótopo natural, o ^{165}Ho , com abundância de 100%. A seção de choque da reação é de 64 barns.

Mumper *et al.*[51] descreveram a irradiação de uma amostra de 50mg de microesferas com hólmio e 150mg de inositol por 3 horas, em um fluxo térmico de $8,88 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$, resultando em 1295MBq (35mCi) de atividade. O inositol foi adicionado para dispersar o calor produzido durante a irradiação com nêutrons.

No *OAK Ridge National Laboratory*, o radioisótopo, ^{166}Ho é produzido em reator, pela captura de nêutrons em um alvo de óxido de hólmio (Ho_2O_3). Este é dissolvido em ácido clorídrico (HCl) e ácido nítrico (HNO_3), evaporado à secura e o resíduo é dissolvido em HCl 0,1M [49].

O ^{166}Ho também pode ser produzido através do decaimento do ^{166}Dy ($t_{1/2}=81,5\text{h}$) pela seguinte reação nuclear [52]:



Para realizar a separação química podem-se usar vários reagentes orgânicos como: alfa-HIBA, HDEHP e TBP [53].

Na reação direta a atividade específica é menor em relação a reação indireta, porém a atividade total produzida é maior. A reação direta é útil para a marcação de microesferas e de fosfonatos (dor óssea), enquanto o ^{166}Ho produzido pela via indireta é preferido para a marcação de biomoléculas, pelo fato da atividade específica ser maior, pois a presença de outros radioisótopos do Ho serem menores.

1.8 – Terapia Interna Seletiva utilizando Microesferas [54]

A aplicação de microesferas em um órgão alvo com a droga específica diminui os efeitos adversos, já que apenas aquele órgão receberá a dose. Claro que os tecidos adjacentes receberão uma pequena porcentagem da dose dependendo do tipo de material aplicado, além da via sistêmica que supre a região a ser atingida. Esta

técnica tem uma aplicação particular em um órgão isolado que possui uma única via arterial aferente que o supre, como o fígado. O uso de microesferas radioativas promove a irradiação do tecido alvo e bloqueio parcial do fluxo venoso/arterial.

1.8.1 - Materiais das Microesferas

As propriedades ideais para que ocorra a marcação das microesferas com um radioisótopo são[55]:

- Alta estabilidade mecânica, para que possa resistir ao desgaste químico quando passar pelos capilares sanguíneos;
- Estabilidade química para não sofrer radiólise;
- Distribuição do tamanho adequado para que algumas partículas não fiquem sedimentadas no capilar ou, ao contrário, sigam para outro órgão e facilidade de marcação;
- O radionuclídeo deve ter uma emissão de raios beta maior que raios gama e um tempo de meia-vida física intermediária (dias).

O tamanho considerado ideal das microesferas é entre 20-50 μm para que alcance as arteríolas do fígado por completo. As esferas são introduzidas por um cateter na artéria hepática, após a administração de drogas vasoativas. As microesferas podem ser feitas de polímero, albumina, resinas de troca iônica e material inorgânico [56].

1.9- Terapia com Radionuclídeos para Câncer de Fígado

A embolização por microesfera radioativas (FIG. 5) para o tratamento de câncer de fígado é um conceito promissor, mas não é recente. Desde o início dos anos

60, pacientes com câncer têm sido tratados com as microesferas marcadas com Ítrio-90 (^{90}Y , $E_{\text{max}}=2,28\text{MeV}$, $I_{\beta}=100\%$; $T_{1/2}=64,1\text{h}$) [57].

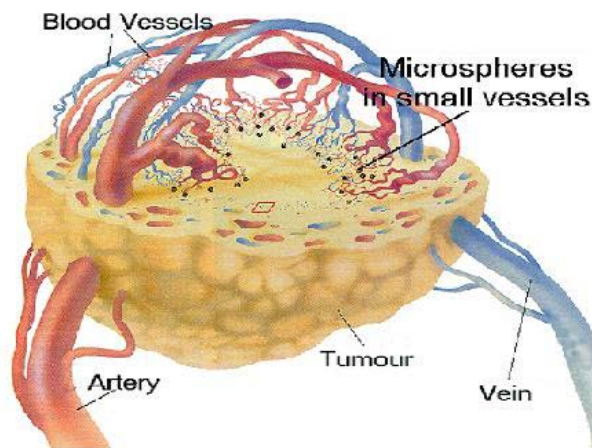


FIGURA 3 - Ilustração das microesferas no fígado por embolia [58]

1.9.1- Primeiras Aplicações de Microesferas Radioativas

O primeiro estudo com microesferas radioativas foi publicado por La Fave *et al.* [59] em 1963, onde os pesquisadores marcaram microesferas de material cerâmico com ^{90}Y , com uma faixa de tamanho de 40-60 μm . Estas microesferas foram injetadas em coelhos brancos (Nova Zelândia) com o carcinoma Vx2 pela artéria hepática para o tratamento de tumores hepáticos. O objetivo deste estudo foi mostrar que a radioterapia interna pode retardar o crescimento do tumor. A conclusão foi que a administração destas microesferas inoculadas mostrou-se um ótimo inibidor do crescimento tumoral, assim como os autores previam.

Blanchard *et al.* [60] realizaram um outro estudo com microesferas plásticas marcadas com ^{90}Y ($15 \pm 3\mu\text{m}$). Elas foram injetadas em 18 coelhos brancos (Nova Zelândia) com o carcinoma Vx2. Neste estudo as microesferas foram injetadas pela veia porta e um grupo de controle recebeu microesferas não radiativas. Os autores concluíram que nos animais que receberam as microesferas marcadas com ^{90}Y os tumores não progrediram ou foram completamente eliminados, já os coelhos que

receberam microesferas não radioativas tiveram uma progressão no crescimento tumoral.

Um outro estudo foi realizado pelo mesmo grupo, também, com coelhos brancos (Nova Zelândia) com carcinoma Vx2, cujo objetivo era mostrar a origem da vascularização do tumor do fígado, no qual foram utilizadas microesferas de cerâmica ou plástico marcadas com o Escândio-46 (^{46}Sc ; $E_{\beta\text{max}}$: 357 keV; I_{β} = 100%; E_{γ} =0,889 e 1,121 MeV; I_{γ} =100% e 100%; $T_{1/2}$ = 83,3 dias). As microesferas foram injetadas tanto na artéria hepática como na via mesentérica. Em ambas as vias, o resultado não teve uma notável diferença em relação a média de contagem no tecido hepático, mas isso não aconteceu quando se leva em conta a média da contagem no tecido tumoral. Este estudo demonstra que o carcinoma Vx2 induzido em coelhos é um modelo animal confiável e o transporte sanguíneo de tumores Vx2 é de origem arterial, assim como em pacientes [61].

Em um estudo clínico o grupo de Blanchard *et al.* [62] publicou um trabalho que envolvia um grupo heterogêneo com 31 pacientes com câncer não-tratável. Eram 26 pacientes com carcinoma de regiões variadas e 5 pacientes com glioblastoma. Todos foram tratados com microesferas de cerâmica marcadas com ^{90}Y (40-60 μm ; 555-14.000MBq ou 15-380 mCi). As microesferas foram administradas de 4 maneiras:

- Infusão na corrente sanguínea (intravenoso ou intrarterial);
- Injeção intratumoral direta;
- Incorporação de uma sutura *Silastic* na parte externa do tumor;
- Impregnação de uma esponja gelatinosa implantada na cavidade tumoral (apenas para tumores cerebrais).

Alguns pacientes parecem ter recebido algum benefício após o tratamento, porém, cerca de 30% destes pacientes sofreram complicações de natureza variada. Todos os pacientes com câncer de fígado não tiveram complicações clínicas. Os autores explicam que poucos pacientes podem ser incluídos neste estudo, já que os

critérios são inadequados e impossibilitam qualquer conclusão que vá oferecer melhoria na qualidade de vida dos pacientes. Estes resultados comparados aos resultados de pacientes da quimioterapia, apresentaram menores taxas de morbidade e mortalidade [8].

1.9.2-Therasphere®

Nas décadas de 60 e 70, o ^{90}Y foi utilizado em tratamento de câncer de fígado com resultados animadores [63,64]. Porém, na década de 80 o *Food and Drugs Administration* (FDA) dos Estados Unidos proibiu o uso clínico das microesferas marcadas com ^{90}Y . O motivo foi um acidente com um lote que o ^{90}Y se desprende do material que o mantinha preso, causando mielossupressão letal em muitos pacientes [61,65-66].

Em 1986, a *Theragenics Corporation* lançou a microesfera de vidro marcada com ^{90}Y , a Therasphere® (FIG. 6). Neste produto o ^{90}Y não se desprende do material vítreo. Uma outra grande vantagem deste produto é a alta atividade específica [67]. A desvantagem da Therasphere® é a alta densidade ($3,29 \text{ g/ cm}^3$) [68]. Esta característica aumenta a probabilidade da microesfera se depositar prematuramente no capilar [56].



FIGURA 4- Foto da embalagem da Therasphere® (esquerda) e recipiente com as microesferas de vidro marcadas com ^{90}Y [86].

Em 1998, a Therasphere®, exclusividade da *MDS Nordion Inc.* (Kanata, Ontário, Canadá), foi aprovada como *Humanitarian Use Device* (HUD), o que significa que foi aprovada para a utilização em tratamento com radiação ou como neoadjuvante para cirurgia ou transplante em pacientes com CHC não-resecável e naqueles em que o cateter pode ser corretamente posicionado na artéria hepática [8].

Em junho de 2006, a Therasphere® recebeu a aprovação da Comunidade Européia para a distribuição e utilização na Europa, para o tratamento de CHC, a forma mais comum de câncer primário de fígado, câncer de fígado secundário ou metastático. Em setembro de 2006 a MDS Nordion anuncia a aprovação do FDA para tratamento de CHC, para pacientes que tem trombose da veia portal total ou parcial e para aqueles que forem candidatos indicados por médicos. Além disso, a MDS Nordion anunciou a utilização da Therasphere® na Índia [69].

1.9.2.1-Pesquisa Clínica

Para a aplicação da Therasphere® o grupo de Salem *et al.* [70] sugere a escolha cuidadosa dos pacientes a serem submetidos a este tratamento, a avaliação do histórico médico, pois quase todos os pacientes já passaram por outros tipos de tratamentos alternativos. Após a escolha, os pacientes realizam testes para avaliar a função hepática, fluxo colateral do trato gastrointestinal e avaliação do *shunting* pulmonar com a cintilografia pulmonar utilizando macroagregado de albumina marcado com Tecnécio-99m (^{99m}Tc ; $E_{\gamma} = 140\text{keV}$; $T_{1/2} = 6$ horas) ($^{99m}\text{Tc-MAA}$).

É muito importante quantificar o *shunting* intra-hepático, em especial, no pulmão e/ou no estômago, antes da administração da dose terapêutica das microesferas marcadas com um emissor β . Por isso, a biodistribuição é avaliada com a administração de $^{99m}\text{Tc-MAA}$. Os autores afirmam que esta técnica é idêntica à aplicação de microesferas de vidro marcadas com ^{90}Y . Porém, as microesferas de vidro são mais densas do que a albumina, o que provavelmente traz algumas implicações na biodistribuição. Na opinião de Vente *et al.* [8] abster-se que a biodistribuição do

^{99m}Tc -MAA não é idêntica seria uma imprudência, já que é um exame padrão antes da administração das microesferas de vidro.

O diâmetro médio das microesferas é de 15 a 35 μm . O ^{90}Y é emissor beta puro com meia-vida de 64,1 horas. Cada miligrama de Therasphere® contém entre 22.000 e 73.000 microesferas. A Therasphere® é fornecida num volume de 0,05 mL de água estéril e livre de pirogênios em frasco de fundo cônico dentro de uma blindagem de acrílico de 12mm. A Therasphere® é comercializada com 6 padrões de atividade, como visto na TAB. 2.

TABELA 2 – Padrões de atividade em que são vendidas as microesferas marcadas com ^{90}Y - Therasphere®

ATIVIDADE (GBq)	No. DE MICROESFERAS (milhões)
3 (81 mCi)	1,2
5 (135 mCi)	2,0
7 (189 mCi)	2,8
10 (270 mCi)	4,0
15 (405 mCi)	6,0
20 (540 mCi)	8,0

Em 2000, Dancey *et al.* [71] publicaram um estudo com 22 pacientes com o objetivo de determinar padrões de resposta, sobrevida e toxicidade após a aplicação da Therasphere®. Vinte pacientes foram avaliados, sendo 9 pacientes com classificação de Okuda estágio I, II e pacientes em estágio III [99]. Foram relatados 31 eventos adversos graves: o mais comum foi a elevação dos níveis enzimáticos no fígado e úlcera gastrointestinal. A eficácia do tumor foi medida pela resposta do tumor, duração da resposta, tempo de progressão e sobrevida. Houve uma resposta

tumoral completa. A média do tempo de progressão foi de 44 semanas, a média de sobrevida foi de 54 semanas (7-180 semanas).

O grupo de Carr *et al.* [72] publicou um estudo com 65 pacientes com CHC inoperável submetidos à aplicação da Therasphere® e avaliou a segurança e a eficácia do tratamento. A média de dose aplicada foi 134 Gy e ocorreram 9 episódios de dores abdominais, 2 episódios de colecistite e elevações transientes da função hepática em 25 pacientes. A média de sobrevida foi 649 e 302 dias para pacientes em estágio I da classificação Okuda I (65%) e pacientes em estágio II, respectivamente.

Na opinião de Salem *et al.* [73] o tratamento com Therasphere® é uma alternativa para pacientes que não tem outra alternativa de tratamento, como pacientes com trombose da veia porta e função hepática pobre.

1.9.3- SIR-Spheres®

Um outro projeto similar ao da MDS Nordion é a SIR-Spheres® (Sirtex Medical Ltd, Sydney, New South Wales, Australia). São microesferas de resina marcadas com ^{90}Y (FIG.7), com um tamanho de $32 \pm 10\mu\text{m}$ [93,94], um pouco maior que a Theraspheres® ($25 \pm 10\mu\text{m}$) [74], mas que apresenta uma densidade ($1,6\text{g}/\text{cm}^3$) menor do que as microesferas de vidro, o que permite menor risco das microesferas se sedimentarem no capilar sanguíneo [8]. Em 2002, o FDA concedeu a pré-aprovação da SIR-Spheres®. Em analogia com a Theraspheres®, que foi apresentada como a única indicação para o tratamento de metástases hepáticas de câncer de colo retal, a SIR-Spheres® foi aprovada, pois é aliada ao tratamento de quimioterapia, utilizando *floxuridine* (fluorodeoxi-uridina), uma deoxiribonucleoside derivada da 5-FU. Além dos Estados Unidos, muitos centros clínicos, em especial, na Europa e Austrália, tratam pacientes com SIR-Spheres® e geralmente não há distinção entre pacientes com câncer de fígado primário ou secundário. Dentro deste quadro, mais de 1.500 doses de microesferas radioativas, incluindo a Therasphere® e a SIR-Spheres® já foram

administradas nos Estados Unidos até 2005. Este fato, faz com que resultados promissores vêm sendo publicados [75].



FIGURA 5 – Foto da embalagem e do aspecto da SIR-Sphere® [76]

1.9.3.1- Pesquisa Clínica

A radioterapia interna seletiva está sendo investigada por Stubbs *et al.* [77] no *The Wakefield Gastroenterology Center* (Wellington/Nova Zelândia) desde Fevereiro de 1997 no controle de diversos tipos de tumores de fígado não ressecáveis, incluindo metástases hepáticas de câncer colo retal. Neste último caso, a SIR-Spheres® foi administrada em associação com a quimioterapia interna utilizando 5-FU. 50 pacientes (19 mulheres e 31 homens) com metástase hepática de câncer colo retal foram submetidos a esta técnica. Antes de iniciar o tratamento estes pacientes foram previamente avaliados pelo exame de Tomografia Computadorizada (TC) abdominal (e pelve, se necessário), radiografia do tórax e exame de sangue padrão, incluindo antígeno carcinoembrionário (CEA). A presença de doença extra-hepática foi considerada um contra indicação para este estudo. A laparotomia foi realizada em 44 pacientes para posicionar o cateter na artéria hepática (FIG. 8) (*Porth-a-Cath*, Pharmacia, St.Paul,Minn).

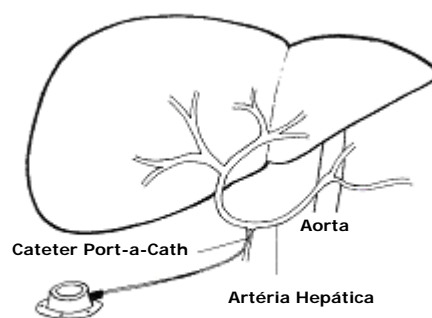


FIGURA 6 - Localização do Port-a-Cath na artéria hepática via artéria gastroduodenal [77]

Em 43 pacientes foi administrado a SIR-Spheres® via cateter posicionado na artéria hepática, seguido pela administração do quimioterápico (5-FU) pela mesma via após 2 dias. Nos outros 7 pacientes, a SIR-Spheres® foi administrada através da artéria femoral e, nestes casos, a quimioterapia interna não foi aplicada. A média de idade dos pacientes era de 61.4 anos (entre 33 a 76 anos).

Antes da aplicação da SIR-Spheres®, duas precauções devem ser tomadas:

1- Teste de liberação é realizado no laboratório dos autores para confirmar a estabilidade da SIR-Spheres®, assegurando que o ^{90}Y livre não irá para a circulação.

2- Um exame de cintilografia hepática, utilizando $^{99\text{m}}\text{Tc-MAA}$ (Amersham Pulmonate II, U.K., tamanho de partícula 10-60 μm , média de 35 μm), administrado na artéria hepática tanto por via port-a-cath ou cateter percutâneo arterial.

A dose administrada é de acordo com o tamanho de tumor. A TAB. 3 mostra a relação do acometimento do fígado pelo tumor e a atividade sugerida pela Sirtex Medical Ltd.

TABELA 3 – Dose das SIR-Spheres® recomendada para os pacientes

% de tecido tumoral no fígado	Atividade recomendada de ^{90}Y
>50%	3,0GBq
25%-50%	2,5GBq
< 25%	2,0GBq

Para a aplicação desta técnica os pacientes receberam uma sedação com *Hypnovel* (*Roche Products Nova Zelândia Ltd., Auckland, Nova Zelândia*) e sedação com narcóticos, geralmente no período de 10 dias após a colocação do cateter. A atividade das microesferas marcadas com ^{90}Y foi estabelecida de acordo com a extensão da doença, após a aplicação foi administrado 500 µg de Angiotensina II (*Hipertensina, Novartis Nova Zelândia Ltd., Auckland, Nova Zelândia*) na artéria hepática. Para realizar a aplicação da SIR-Spheres® é utilizado um aparato especial (FIG. 9), chamado *Perspex* (*Paragon Medical Ltd.*), que permite a aplicação do produto por pulsos e intercalado com água estéril.



FIGURA 7 – Foto do aparato utilizado nas aplicações da SIR-Spheres®, chamado de Perspex [76]

Até o momento da publicação deste estudo, 37 pacientes morreram com uma média de sobrevida de 11,6 meses (entre 1,9 a 91,4) após o diagnóstico e 7,0 meses (entre 1,0 a 27,8) após a aplicação da SIR-Spheres®. 30 destes pacientes morreram com doença extra-hepática progressiva (10 acometidos no fígado e mais de um sítio e 20 pacientes com dois ou mais sítios acometidos). Apenas 7 pacientes apresentaram apenas doença no fígado.

Na opinião dos autores as técnicas de radiofrequência, crioterapia e ablação a laser são efetivas em algumas circunstâncias, porém grande parte dos pacientes com metástases hepáticas de câncer de colo retal apresentam muitas lesões para estas técnicas mencionadas serem aplicadas. A quimioterapia regional tem sido investigada e oferece algumas vantagens em relação a quimioterapia sistêmica, mas ainda não é suficientemente confiável como um benefício [78]. A radioterapia interna é uma opção para estes pacientes [77].

A opinião de Nijsen *et al.* [56] é que em comparação com a microesferas de vidro, as microesferas de resina têm característica uma densidade menor, o que, provavelmente, resulta em uma melhor distribuição quando injetadas na artéria hepática, portanto, mais segura e mais efetiva.

1.9.4- Microesferas marcadas com ^{166}Ho

A terapia com microesferas marcadas com ^{90}Y é efetiva no tratamento de tumores hepáticos, com resultados clínicos encorajadores, descritos na literatura. Um fator negativo é a impossibilidade de se obter imagens pela técnica de SPECT (Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único) pelo fato do ^{90}Y não ser emissor gama. Deste modo não é possível avaliar a biodistribuição das microesferas marcadas [8].

Microesferas poliméricas de ácido láctico marcadas com ^{166}Ho , originalmente propostas por Mumper *et al.* [51], e desenvolvidas por Nijsen *et al.* [79], apresentam

diversas vantagens que as tornam um radioterápico favorável a terapia de tumores hepáticos, em comparação com o ^{90}Y :

- A principal razão é que a seção de choque de captura de nêutrons (do ^{165}Ho é muito maior em relação à seção de choque do ^{90}Y (^{165}Ho : $\sigma = 64\text{b}$; ^{89}Y : $\sigma = 1,3\text{b}$). Isto permite a produção de altas atividades de ^{166}Ho mesmo em Reatores Nucleares de pesquisa;
- A energia do beta é menor que a do ^{90}Y ($E_{\beta\text{max}} = 1,74$ e $1,85$ MeV; $I_{\beta} = 48,7\%$ e 50% , respectivamente), minimizando a dose recebida por tecidos sadios;
- O ^{166}Ho é um emissor gama ($E_{\gamma} = 81$ KeV; $I_{\gamma} = 6,7\%$), o que possibilita a formação de imagens;
- O custo das microesferas marcadas com ^{166}Ho é menor em relação as microesferas de ^{90}Y .

Outra característica favorável é que o ^{166}Ho é altamente paramagnético, podendo ser usado tanto para cintilografia (exame quantitativo) como para a Ressonância Magnética[80].

Vente *et al.* [8] do mesmo grupo de Nijssen *et al.*[79] analisaram através do contador de partículas *Coulter Multisizer 3* (Beckman Coulter Nederland, Mijdrecht, The Netherlands) que uma amostra conhecida de microesferas, 700 mg, corresponde, aproximadamente, a 33 milhões de partículas. Isto permitiu realizar o cálculo da atividade por microesferas, que corresponde a 450 Bq/esfera, o que influencia na quantidade de microesferas injetadas no paciente, relacionadas ao fato de ocorrer efeitos de embolização. A TAB. 4 compara os três tipos de microesferas: a Therasphere®, a SIR-Spheres® e as microesferas de ácido lático marcadas com ^{166}Ho . A TAB. 5 compara as características físicas do ^{90}Y e do ^{166}Ho . Na TAB. 4 pode-se notar que a densidade da Therasphere ® é maior em relação aos outros tipos de microesferas, porém o tamanho entre elas é muito semelhante, o que leva a crer que

o tamanho de partícula é uma característica mais importante do que a densidade. A atividade específica de cada uma é variável e a quantidade de microesferas injetadas está relacionada com este fator. A TAB. 5 compara as características físicas dos radioisótopos ^{90}Y e ^{166}Ho . Apesar do ^{166}Ho não ter o mesmo alcance no tecido que o ^{90}Y , ele possui raios γ associados, que é uma característica favorável à formação de imagens.

TABELA 4. Características das Microesferas Marcadas com Radionuclídeos [8]

Partícula	Radionuclídeo	Matriz	Densidade (g/cm ³)	Diâmetro (µm)	Quantidade de partículas administradas (mg)	No. de partículas administradas (milhões)	Atividade por Microesfera (Bq)
Therasphere® (MDS Nordion)	Ítrio-90	Vidro	3,3	25 ± 10	110	4	1.250-2.500
SIR-Spheres® (SIRTeX)	Ítrio-90	Polímero	1,6	32 ± 10	1.370	5	50
Ho-Microesfera (UMC Utrech)	Hólmio-166	PLLA	1,4	30 ± 5	700	33	450

TABELA5. Características dos Radionuclídeos para Radioterapia Interna [8]

Radionuclídeo	Seção de choque (barn)	T _{1/2} (horas)	Emissão de raios gama (keV)		Emissão de raios beta (keV)		Media de alcance no tecido (mm)
Ítrio-90	1,3	64,2	-	-	2280,1	99,9%	3,9
Hólmio-166	64	26,8	80,6	6,7%	1774,3	48,7%	3,2
			1379,4	0,9%	1854,9	50,0%	

1.9.6 – Uso do Lipiodol para Terapia de Tumores Hepáticos

O Lipiodol foi desenvolvido por Marcel Guerbet em 1901. Em 1918, foi identificado como um meio de contraste para radiologia convencional [8]. Em 1966, Idezuki *et al.* [81] estudaram doenças hepáticas com a injeção de lipiodol na veia porta e documentou radiografias. Nos primeiros 2 dias, imagens demonstraram uma boa retenção do lipiodol no fígado. A escolha de marcar o lipiodo com ^{131}I é óbvia, pois já existe iodo na molécula, então é realizada uma reação de troca isotópica [8].

Boucher *et al.* [82] relataram um estudo com 40 pacientes com CHC tratados com a injeção de Lipiodol marcado com ^{131}I . A resposta foi avaliada através de exames de CT após o tratamento e cada 3 meses durante o follow-up. Um paciente (2,5%) obteve resposta completa; 18 (45%) pacientes obtiveram resposta parcial; 19 (47,5%) pacientes permaneceram com a doença estável e em 2 pacientes a doença progrediu. A média de sobrevida foi de 27 meses. Os autores concluíram que o tratamento é efetivo para pacientes não-elegíveis à ressecção cirúrgica e tratamentos locais.

No Brasil é utilizado como uma alternativa de tratamento. Langer *et al.* [83] avaliaram os resultados da quimioembolização (com mitomicina C associada ao lipiodol) em 23 pacientes com CHC, portadores de fígado cirrótico candidatos ao transplante hepático. Foram submetidos a múltiplas sessões de quimioembolização hepática arterial. A resposta do tumor foi acompanhada principalmente através de exames de CT e níveis séricos de alfa-fetoproteína. O tempo médio de sobrevivência foi de 14 meses. Embora a terapêutica adotada tenha aumentado a sobrevida, em comparação a dados históricos de evolução do CHC, este aumento não teve a mesma dimensão que o tempo médio de espera para a realização do transplante, sendo, dessa forma, necessária a associação de outras estratégias para prolongar o tempo de sobrevida ou a redução no tempo de espera do doente.

1.10 - Microesferas marcadas com outros radioisótopos

No Centro de Ciência e Tecnologia (CCTM, IPEN-CNEN/SP) Sene, Martinelli e Okuno [84] desenvolveram microesferas de vidro para serem marcadas com Fósforo-32 (^{32}P , $t_{1/2}=14,3$ dias, $E_{\beta\text{max}}= 1,70$ MeV) para radioterapia interna seletiva. Foram testadas 12 composições à frio, com diferentes massas de P_2O_5 , Al_2O_3 , SiO_2 e MgO . Dentro todas elas, o grupo MVP9 (MVP9a, MVP9b e MVP9c) das microesferas foi a que apresentou uma durabilidade química adequada, além de não ter apresentado efeitos tóxicos em testes *in vitro*. As microesferas com a composição MVP9b (42% de P_2O_5 , 12% de Al_2O_3 , 4% de SiO_2 e 42% de MgO) foram consideradas as com a melhor durabilidade química e resistência a cristalização após o resfriamento e por isso, foi considerada a mais promissora para a produção de microesferas radioativas.

Häfeli *et al.* [85] marcaram microesferas de vidro com $^{186}\text{Re}/^{188}\text{Re}$. Elas se apresentaram esféricas e com densidade de aproximadamente $2,9 \text{ g/cm}^3$, tamanhos de partículas menores que $4\mu\text{m}$ e foram injetadas em ratos. Não apresentaram toxicidade e houve uma diminuição no crescimento dos tumores. Os autores relatam a facilidade de obtenção do $^{186}\text{Re}/^{188}\text{Re}$ em relação ao ^{90}Y , pois necessita de um tempo menor de irradiação no reator nuclear. O alvo foi irradiado durante 2 horas, em fluxo de nêutrons de $1,5 \times 10^{13} \text{ ncm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Em 30mg de microesferas de vidro marcadas com $^{186}\text{Re}/^{188}\text{Re}$ foram produzidas atividades de 92,5 MBq (2,5mCi).

Wang *et al.* [86] estudaram a resina Aminex A-27 (BioRad, EUA) marcada com ^{188}Re . A eficiência de marcação foi superior a 90% por mais de 3 dias. As microesferas marcadas foram injetadas em 30 ratos com tumores hepáticos. 10 responderam bem ao tratamento, em 3 deles o tumor desapareceu por completo, 5 apresentaram uma resposta pobre ao tratamento, sendo que 2 morreram. No grupo de controle, de 15 ratos, 12 sobreviveram por mais 60 dias após a administração das microesferas radioativas.

1.11- Outros Fármacos marcados com ^{166}Ho

O EDTMP (etilenodiaminetetrametileno fosfonato) pode ser marcado tanto com o Samário-153 (^{153}Sm) ou com o ^{166}Ho para tratamento de metástases ósseas [87].

O ^{166}Ho -DOTMP (1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrametileno-ácido fosfônico) foi utilizado em pacientes com mieloma múltiplo que não respondem a terapia convencional com um transplante de medula óssea planejado, que receberam este radiofármaco para mapear a medula óssea e verificar se a mesma podia ser removida. Todos os seis pacientes apresentaram toxicidade nos leucócitos, dois deles atingiram o objetivo [88].

O complexo ^{166}Ho -citosan é utilizado em terapia de câncer de fígado, administrado via intra-hepática ou intra-tumoral. Também apresentou bons resultados no tratamento de artrite reumatóide nos joelhos (radiosinovectomia). Com a mesma finalidade, radiosinovectomia, a hidroxiapatita (HA) foi marcada com ^{166}Ho e mostrou uma excelente estabilidade após 72 horas do preparo e 48 horas após injeção em coelhos (Nova Zelândia) com artrite nos joelhos [89].

O conjugado CHX-B-DTPA foi marcado com ^{166}Ho como precursor de marcação do anticorpo 135-14, com rendimento de aproximadamente 80% e atividade específica de 3-4 mCi do ^{166}Ho por mg de proteína. O anticorpo marcado mostrou-se estável em relação ao desafio da transferrina por um período de 50 horas [90].

1.12- Revisão de Literatura – Microesferas marcadas com ^{166}Ho

Mumper *et al.*[51] descreveram que mais de 98% da atividade do ^{166}Ho ficou retida na microesfera de ácido lático depois de 192 horas incubada à 37°C, em meio fisiológico. Portanto, esta característica é favorável em experimentos de aplicação. Porém, o baixo peso molecular dos compostos faz com que siga para outros órgãos. A solução encontrada foi adição de acetilacetato (HoAcAc) para aumentar a estabilidade da molécula. A incorporação encontrada foi de (27,7 ± 4,9)% de HoAcAc.

A irradiação com um alto fluxo de nêutrons não influenciou no tamanho das microesferas. A adição de inositol provou ser um bom dispersante do calor interno produzido pela irradiação de nêutrons e foi, facilmente, dissolvido por suspensão. Por infravermelho comprovou-se que após a irradiação foi mantida a integridade do polímero. As microesferas preparadas com 1% de PVA degradaram-se rapidamente após 312 horas e 49,9% do material encapsulado por 406 horas foi liberado. As microesferas preparadas com 3% PVA mostraram uma retenção superior com apenas 2,6% do ^{166}Ho liberado após 382,3 horas. As microesferas de ácido láctico (com 310-950 μCi - 11-35 MBq ^{166}Ho) foram administradas em seis coelhos. As imagens foram adquiridas após 24 horas e os coelhos foram sacrificados após 144 horas. A retenção no fígado após as 144 horas foi de 92,1%.

Nijsen *et al.*[79] demonstraram que o hólmio pode ser ligado às microesferas de ácido láctico por um método relativamente simples. O AcAc (180g) foi dissolvido em 1080g de água (pH 3,5-4,0). Hidróxido de Amônia foi adicionado à solução de AcAc em agitação até atingir o pH 8,5. O cloreto de Hólmio (HoCl_3) (10g em 30 ml de água) foi adicionado à solução em agitação em temperatura ambiente, permitindo a formação de cristais de Ho-AcAc. Estes cristais foram coletados por filtração em Milipore de 5,0 μm , lavado com água por três vezes e seco em nitrogênio.

Os cristais de Ho-AcAc (10g) e PLA (6g) foram adicionados continuamente e misturados com 186g de clorofórmio. O PVA foi dissolvido em água à 40°C. O clorofórmio foi adicionado à solução de PVA com agitação contínua de 500 rpm (rotações por minuto) até o clorofórmio ser totalmente evaporado. Para que se remova o resíduo de PVA e HoAcAc não incorporados, as microesferas foram seqüencialmente lavadas com água, HCl (0,1 mol.L⁻¹) e água.

A caracterização das microesferas irradiadas ou não irradiadas foi executada pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MeV), pela análise do tamanho da partícula à laser e espectroscopia gama do ^{166}Ho . Para a determinação do peso molecular do ácido láctico, as microesferas foram dissolvidas em clorofórmio e analisadas em CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

Foram realizadas duas irradiações no reator de Petter, na Holanda. Foram usados dois fluxos de nêutrons, $5 \times 10^{13} \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $2 \times 10^4 \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ em um frasco de quartzo dentro de um recipiente de alumínio selado. Quantidades de 10,200 e 400mg de microesferas marcadas com Hólmio secas foram irradiadas por 0,5, 1,2, ou 4 horas. A quantidade de Hólmio na microesfera foi determinada pela ativação com fluxo de nêutrons ($3,1 \times 10^{11} \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$). Moléculas de ^{166}Ho - ácido láctico mostraram uma excelente acumulação em torno de tumores de fígado presentes em ratos [91]. Efeitos terapêuticos positivos também foram demonstrados em coelhos [92].

Turner *et al.* [50] irradiaram alvos de Ho_2O_3 no reator HIFAR (*Australian Nuclear Science Technology Organization, Sydney, Austrália*) por 30 horas em fluxo térmico de $5,0 \times 10^{13} \text{ncm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Posteriormente, o alvo foi dissolvido em HCl. As microesferas de resinas foram marcadas com ^{166}Ho , com um tamanho de $(13,0 \pm 2,0) \mu\text{m}$ de diâmetro, sendo preparadas pela adição de $^{166}\text{HoCl}_3$ em resina catiônica Aminex A-5 (*Bio-Rad Inc. Hercules CA, EUA*). A atividade das microesferas marcadas com ^{166}Ho no momento da calibração era de 4GBq (108mCi) em 200mg de resina suspensa em 6mL de glicose 5%, contendo, aproximadamente, 2×10^8 microesferas determinadas por um hemocímetro.

1.13 – Resinas de Troca iônica

O início da tecnologia moderna de troca iônica ocorreu em 1935, através do uso de polímeros orgânicos sintéticos. Em 1942, D' Alelio sintetizou resinas com base no estireno cruzado com divinilbenzeno, produzindo a primeira resina monofuncional, fortemente ácida [94]. A partir de então, novas resinas de diferentes tipos foram sintetizadas. Isto se constituiu em um grande avanço nos processos de troca iônica [95].

Basicamente, as resinas sintéticas são sólidos formados por uma matriz e de grupos ionizáveis quimicamente ligados a sua estrutura.

A copolimerização do estireno e divinilbenzeno, seguida da sulfonação, resulta

na formação de resinas de troca iônica fortemente ácidas (troca catiônica), enquanto que a clorometilação, seguida da reação com uma amina terciária, produz resinas de troca iônica fortemente básicas (troca aniônica) (FIG. 9) [95].

As resinas de troca iônica sintéticas devem ter sua estrutura molecular aberta e permeável de modo que os íons do solvente possam se mover livremente e para que a troca seja efetuada com rapidez suficiente [94,95].

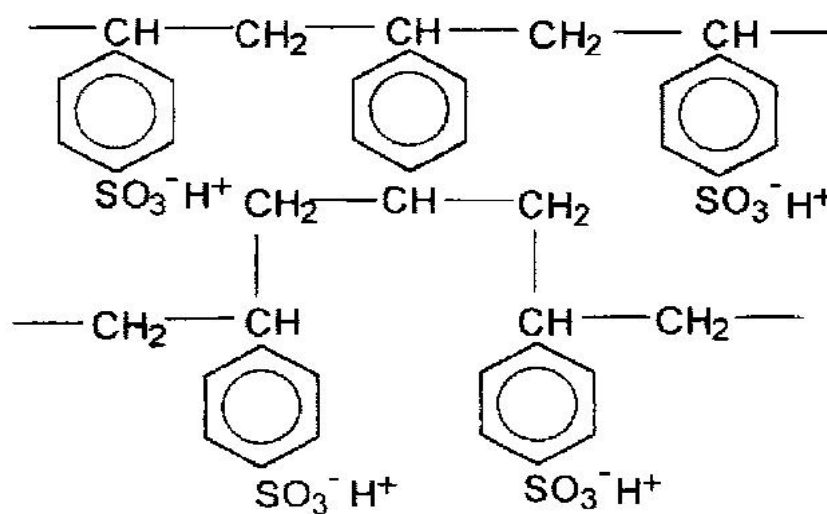
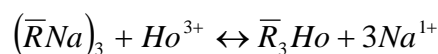


FIGURA 8 – Estrutura química de uma resina de troca iônica típica

As resinas de troca catiônica contêm cátions livres que podem ser trocados por cátions da solução, como por exemplo, no caso do ^{166}Ho :



A primeira parte do grupo é fixada ao esqueleto da resina por uma ligação covalente formando um tipo de macro-íon. Os íons de cargas opostas são ligados ao macro-íon por forças eletrostáticas, sendo denominados de contra-íons. Estes contra-íons fazem parte do grupo funcional e podem ser trocados por uma quantidade equivalente de vários íons, de forma a manter a eletroneutralidade [95].

As propriedades físicas das resinas são determinadas pelo grau de reticulação. Uma resina altamente reticulada geralmente é mais dura, mais quebradiça e menos permeável que uma resina de baixa reticulação; sendo assim, o grau de reticulação determina a capacidade de intumescimento e a velocidade de troca iônica [95].

Uma reação de troca iônica consiste na troca reversível de íons entre duas fases imiscíveis. Vários fatores são envolvidos no processo de troca iônica, dentre eles destacam-se o tamanho das partículas, o tipo de troca, o fluxo e a temperatura [95].

A capacidade de troca e a seletividade são as principais características de uma resina, sendo a capacidade de troca expressa como uma medida da quantidade máxima de contra-íons a serem trocados enquanto que a seletividade está relacionada com o grupo funcional, o grau de ligações cruzadas e a própria capacidade de troca [95].

Vários fatores são envolvidos nos processos de troca iônica, dentre eles destacam-se o tamanho de partículas, o tipo de troca, o fluxo e a temperatura. Admite-se que a velocidade de troca depende da estrutura química da resina, enquanto que a cinética de troca é dependente da sua estrutura física [96].

No condicionamento da resina, é importante considerar a seletividade de íons com relação ao grupo funcional da resina, devido a diferenças na afinidade de vários íons para a resina [95].

1.14- Justificativa

O Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP tem como missão a produção e distribuição de radioisótopos e radiofármacos para uso em Medicina Nuclear. Uma das linhas mais recentes da Medicina Nuclear é o uso de radioterápicos, que são radioisótopos com características físicas adequadas de decaimento para uso terapêutico. Dentre estes se destacam o ^{153}Sm , produto de distribuição rotineira, o ^{188}Re , o ^{90}Y e o ^{166}Ho . O desenvolvimento de novos radiofármacos marcados com estes

radionuclídeos é muito importante para uso em oncologia, objetivo atual da Medicina Nuclear.

Existe um interesse da classe médica na técnica de radioterapia interna utilizando radionuclídeos para o tratamento de tumores de fígado, até mesmo pelos bons resultados apresentados na literatura e o impacto desta técnica na sobrevivência destes pacientes com tumores hepáticos.

Meios de comunicação de massa brasileira como o jornal Folha de São Paulo e a revista Época, já publicaram reportagens sobre o assunto e mostrando a eficácia desta técnica nos países em que é aplicada. Alguns médicos brasileiros demonstraram interesse no uso de microesferas marcadas com ^{166}Ho , que justifica a possível aplicabilidade deste trabalho.

2- OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento da tecnologia de preparo de microesferas poliméricas e de resina marcadas com ^{166}Ho para tratamento de tumores de origem hepática.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Infra-estrutura e Equipamentos

Todos os procedimentos foram realizados nos laboratórios do Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP. Os principais equipamentos utilizados foram:

- Agitador RW20-N (IKA, EUA);
- Agitador mecânico de peneiras série 9802 (Bertel, Brasil);
- Balança M220 (Denver, Brasil);
- Calibrador de doses, modelo CRMtm-35R (Capintec, EUA);
- Centrífuga Himac CF7D2 (Hitachi, Japão);
- Contador de Partículas 1064 (Cilas, França);
- Estufa Orion 515 (Fanem, Brasil);
- Espectrômetro de radiação gama, constituído de um detector Germânio Hiperpuro (HPGe), modelo GX1518 (Canberra, EUA);
- Peagômetro DM-20 (Digimed, Brasil);
- Vidraria adequada.

3.2- Lista de Reagentes

Os reagentes utilizados foram:

- Acetilacetato, 2,4-pentadiona (AcAc; 99.5%; Fluka),
- Ácido Clorídrico (37%, Merck)
- Ácido Lático (PLLA; 85%; Sigma),
- AG50W-X2 100-200 mesh (BioRad),
- AG50W-X8 200-400 mesh (BioRad)
- Álcool Polivinílico (PVA; Fluka),

- Amberlite IR 120 NA (Rohm and Haas)
- Cloreto de Hólmio Hexahidratado III ($\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99,9%, Sigma),
- Clorofórmio (CHCl_3 ; Merck);
- CM Sephadex C-25 (GE Lifesciences);
- Hidróxido de Amônio (NH_4OH ; Merck),
- Hidróxido de Sódio (NaOH , Nuclear),
- Óxido de Hólmio (III) (Ho_2O_3 , 99,999%, Aldrich)
- SP Sepharose High Performance (GE Lifesciences);

3.3 - Alvos de Hólmio

Amostras de Ho_2O_3 e $\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foram irradiadas em quartzo dentro de invólucro de alumínio (7cm de altura, 2,1cm de diâmetro) (FIG. 8) em posições selecionadas no reator nuclear IEA-R1 no IPEN-CNEN/SP. O fluxo de nêutrons foi $1,0 \times 10^{13} \text{ns}^{-1} \text{cm}^{-2}$ e o tempo de irradiação variou de 10 minutos à 5 horas. Após a irradiação as amostras foram processadas no Centro de Radiofarmácia (IPEN-CNEN/SP).



FIGURA 9. Alvo de Óxido de Hólmio em quartzo e invólucro de alumínio.

3.3.1- Medida da Atividade Específica de ^{166}Ho

Para os cálculos experimentais de ativação foram utilizadas as equações 1 e 2 descritas abaixo, após a contagem dos alvos irradiados no detector de Ge hiperpuro.

$$dps = \frac{cps}{a_y \cdot \varepsilon_y} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

dps= desintegração por segundo (Bq);

cps= contagem por segundo, que é a área do pico dividido pelo tempo de contagem;

a= abundância dos raios - γ do radionuclídeo (%);

ε = eficiência do detector.

$$A = A_0 e^{-\lambda t} \quad \text{Eq. 2}$$

$$\lambda = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

A= atividade (Bq);

A_0 = atividade inicial (Bq);

$t_{1/2}$ = meia-vida física (d);

t = tempo de decaimento (d)

λ = constante de decaimento

A equação 2 foi usada para calcular a atividade no fim da irradiação.

3.3.2- Dissolução dos alvos de Ho_2O_3

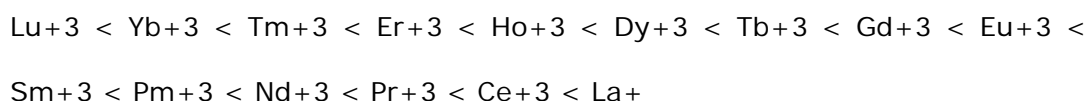
A dissolução dos alvos de Ho_2O_3 (87% de Hólmio presente no Ho_2O_3) foi estudada em diferentes volumes de HCl 0,1N, variando a temperatura de aquecimento.

3.3.3 - Dissolução do alvo de $\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

A dissolução do alvo de $^{166}\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (43% de Hólmio presente no $^{166}\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ocorre de maneira mais simples, direto em água destilada.

3.4- Microesferas de Resinas Catiônicas

As resinas de troca catiônica foram escolhidas, pois os elementos da série dos lantanídeos, como o Hólmio, quando ionizados tem estado de oxidação +3. Tais íons são retidos em resinas catiônicas com grupo sulfônico, na seguinte ordem de seletividade [93]:



Por este motivo foi escolhida a resina catiônica para retenção de ^{166}Ho .

Baseado no trabalho de Turner *et al.*[50] foram estudados diversos tipos de resinas catiônicas: AG50W-X2 (100-200 mesh), AG50W-X8 (200-400 mesh), Amberlite IR 120 NA, CM Sephadex C-25 e SP Sepharose High Performance. As características destas resinas estão descritas na TAB.4.

TABELA 4. Características das Resinas Catiônicas empregadas neste trabalho*

Resina	Descrição	Tamanho de Partícula (µm)	Densidade (g/cm³)	Matriz
AG50W-X2 (100-200 mesh)	Troca Catiônica Forte	106-300	0,85	Estireno Divinilbenzeno
AG50W-X8 (200-400 mesh)	Troca Catiônica Forte	63-150	0,85	Estireno Divinilbenzeno
Amberlite IR 120 NA	Troca Catiônica Forte	600-800	0,85	Estireno Divinilbenzeno
CM Sephadex C-25	Troca Catiônica Fraca	40-125	**	Dextrana
SP Sepharose High Performance	Troca Catiônica Forte	24-44	0,05	Agarose com 6% de ligações cruzadas

* Dados do Fabricante

**Não disponível

3.4.1 - Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite marcadas com ¹⁶⁶Ho

As resinas foram ativadas com HCl 0,1N, H₂O e NaOH 0,1N e condicionadas em meio ácido (HCl 0,1N).

As resinas foram colocadas em colunas de vidro (FIG.10) e a solução contendo ¹⁶⁶Ho foi percolada pela resina (carga). A seguir um volume conhecido de HCl 0,1N foi percolado pela resina. As resinas marcadas com ¹⁶⁶Ho, foram submetidas a testes de estabilidade com: solução salina 0,9%, solução tampão PBS (solução salina tamponada com fosfato 0,01M e pH 7,4) e plasma sanguíneo.



FIGURA 10. As resinas AG50W-X2 e AG50W-X8 (direita para a esquerda) em colunas com placa porosa de vidro condicionadas com HCl 0,1N, H₂O e NaOH 0,1N

As amostras de carga e eluições com HCl e dos testes de estabilidade foram recolhidas e analisadas por espectroscopia de radiação gama com um detector de germânio hiperpuro (HPGe), com o objetivo de medir a presença do ¹⁶⁶Ho. A distribuição do tamanho das partículas foi determinada através do um granulômetro a laser ótico (Cilas,1064).

Com o objetivo de diminuir o tamanho médio das partículas, a resina Amberlite foi triturada em liquidificador.

3.4.2 – Resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ¹⁶⁶Ho

As resinas Sephadex e Sepharose foram ativadas com água deionizada em colunas de vidro e a solução contendo ¹⁶⁶Ho foi percolada pela resina (carga). Como a dissolução do alvo de ¹⁶⁶Ho ocorre em meio ácido (HCl 0,1N) e as resinas mantêm suas propriedades em meio neutro-alcalino (pH 4-10), o pH da solução contendo ¹⁶⁶Ho foi ajustado com NaOH 0,1N para pH 6. As resinas foram colocadas em colunas de vidro e percoladas com solução salina 0,9%. Para saber qual a melhor relação de massa de resina por massa de ¹⁶⁶Ho₂O₃, o que expressa a capacidade da

resina pelo Ho, foram realizados diversos testes variando-se as massas. Testes de estabilidade foram realizados com: glicose 5%, solução salina 0,9%, solução tampão PBS (solução salina tamponada com fosfato 0,01M e pH 7,4) e plasma sanguíneo.

As amostras eluídas foram recolhidas e analisadas por espectroscopia de radiação gama de um detector germânio hiperpuro (HPGe), com o objetivo de medir a presença do ^{166}Ho . A distribuição do tamanho das partículas foi determinada através do um granulômetro a laser ótico (Cilas,1064).

3.4.3 – Estimativa de Custo da Sepharose marcada com ^{166}Ho

O custo da Sepharose marcada com ^{166}Ho foi estimado de acordo com o custo do EDTMP (ácido etilenodiaminotetrametileno difosfórico) marcado com Samário-153 (^{153}Sm , $t_{1/2}=46,8$ horas, $E_{\gamma}=103\text{keV}$, $E_{\beta}=290\text{keV}$), utilizado como paliativo da dor óssea em pacientes com metástases ósseas. O ^{153}Sm é produzido no reator nuclear IEA-R1 no IPEN-CNEN/SP. Em 1995, o IPEN-CNEN/SP iniciou a produção de ^{153}Sm -EDTMP, o qual atualmente encontra-se disponível para utilização em todo o território nacional, com cobertura de custos por convênios médicos e Sistema Único de Saúde (SUS). Neste cálculo, os custos de irradiação no reator nuclear, operação da cela de produção, controle de qualidade e mão-de-obra foram considerados os mesmos para a resina marcada com ^{166}Ho e para o preparo do ^{153}Sm -EDTMP. Foi assumida uma produção semanal de 6 doses.

3.5 - Desenvolvimento de Microesferas de Ácido Lático marcadas com ^{166}Ho

Estes experimentos foram baseados no trabalho de Nijssen *et al.*[79]. É realizado em duas etapas. A primeira é a formação de cristais de Acetilacetato de Ho (HoAcAc), para que o Hólmio permaneça estável, oferecendo uma maior segurança

quando ligado às microesferas de ácido lático, que fazem parte da segunda parte do preparo.

3.5.1 - 1ª Fase - Preparo do Acetilacetonato de Ho (HoAcAc)

O AcAc (18,5 mL) foi dissolvido em 108 mL de água e a solução ficou com pH 3,5-4,0. O hidróxido de amônia foi adicionado à solução de AcAc em agitação até atingir o pH 8,5. O $\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10g em 30 ml de água) foi adicionado à solução em agitação em temperatura ambiente, permitindo a formação de cristais de HoAcAc após 24 horas. Estes cristais foram coletados por filtração em Milipore de μm ou por centrifugação, lavados com água por três vezes e secos na estufa a 60°C.

O rendimento da reação de preparo do HoAcAc foi calculado pela estequiometria da reação, com os valores de massa do Ho inicial e do HoAcAc final.

3.5.2 - 2ª Fase - Síntese das microesferas de Ácido Lático com Hólmio

Os cristais de HoAcAc (1g) e PLLA (0,5mL) foram adicionados continuamente e misturados com 12,6 mL de clorofórmio. O PVA foi dissolvido em água a 40°C em uma concentração de 2% (2g de PVA em 100mL de água). O clorofórmio foi adicionado à solução de PVA com agitação contínua de 500 rpm (rotações por minuto) e a agitação continuou até o clorofórmio ser totalmente evaporado, para que se remova o resíduo de PVA e HoAcAc não incorporados. O PVA não faz parte da microesfera, a função dele é dar uma base para que elas se formem. Posteriormente, as microesferas foram seqüencialmente lavadas com água, HCl 0,1N e água.

4- RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 - Irradiações dos Alvos de Hólmio

Todas as amostras foram irradiadas no reator nuclear IEA-R1 no IPEN-CNEN/SP. O fluxo de nêutrons médio foi $1,0 \times 10^{13} \text{ n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ e o tempo de irradiação variou de 10 minutos a 5 horas. A atividade obtida em uma amostra contendo 100 mg de Ho_2O_3 , irradiada durante 1 hora com o fluxo de nêutrons de $9,7 \times 10^{12} \text{ n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ foi 1200 MBq. Com este valor foi calculada a atividade específica do ^{166}Ho e simuladas outras possíveis condições de operação do reator nuclear IEA-R1 apresentadas na TAB. 5. A pureza radionuclídica do ^{166}Ho foi maior que 99%.

TABELA 5. Atividade Específica do ^{166}Ho Produzido no Reator Nuclear IEA-R1

Tempo de irradiação (h)	Fluxo de Nêutrons ($\text{n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$)	Atividade Específica (Ci/g)	Observações
1	$9,7 \times 10^{12}$	0,37 (13GBq/g)	Experimental
1	$4,0 \times 10^{13}$	1,65 (61GBq/g)	Maior fluxo atual
60	$4,0 \times 10^{13}$	42,96 (590GBq/g)	Melhor condição atual
1	$7,0 \times 10^{13}$	2,89 (107GBq/g)	Maior fluxo futuro
60	$7,0 \times 10^{13}$	91,57 (3388GBq/g)	Melhor condição futura

A TAB. 5 mostra que experimentalmente foi obtida uma atividade de 0,37Ci/g em uma amostra de Ho_2O_3 quando irradiada por uma hora em um fluxo relativamente baixo ($9,7 \times 10^{12} \text{ n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$). Ainda que o reator nuclear IAE-R1 não esteja operando

com a potência máxima (5MW), é possível produzir atividade necessária para uma dose radioterápica em um paciente usando a melhor condição do reator atualmente (60 horas e fluxo de nêutrons de $4,0 \times 10^{13} \text{n.s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$).

Estes dados são importantes, porque existem dois tipos de microesferas marcadas com ^{90}Y no mercado mundial, que apresentam resultados animadores. O ^{90}Y é um excelente radioterápico para esta técnica, porém não é possível produzi-lo no Brasil. A única opção é a importação do material, o que envolve maior custo em relação aos radionuclídeos produzidos em território brasileiro. Este custo reduz o número de possíveis tratamentos tendo em vista as condições sociais do país. Uma alternativa é a obtenção do ^{90}Y através do gerador Estrôncio-90/Ítrio-90 ($^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$) produzido no Brasil, porém, neste caso o ^{90}Sr também será importado, pois assim como o ^{90}Y , não é possível produzi-lo em reatores nucleares nacionais, mesmo com a possibilidade de aumento da potência do reator nuclear IEA-R1.

4.1.2 - Dissolução do Ho_2O_3

A TAB. 5 mostra os resultados da dissolução do Ho_2O_3 . Existe uma relação direta entre o aumento do volume de HCl 0,1N e a massa do Ho_2O_3 . Além desta relação, existe um efeito positivo do aumento da temperatura. O tempo de dissolução foi variado, mas não ultrapassou 15 minutos para as amostras de maior massa. A dissolução foi determinada por inspeção visual.

TABELA 6- Condições de dissolução do Ho_2O_3

Massa do Ho_2O_3 (mg)	Volume do HCl 0,1N (mL)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Dissolução
1,8	1,0	60	Sim
4,5	8,0	60	Sim
6,0	1,0	90	Não
6,0	2,0	90	Sim
8,1	2,5	90	Sim
10,7	2,0	90	Não
10,7	3,0	90	Sim

4.2- Microesferas de Resinas Catiônicas marcadas com ^{166}Ho

4.2.1- Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite marcadas com ^{166}Ho

A TAB. 7 mostra a retenção do ^{166}Ho nas seguintes resinas: AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite.

TABELA 7. Retenção do ^{166}Ho nas Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite

Resina	AG50W-X2	AG50W-X8	Amberlite
Massa da Resina (g)	1,0	1,0	1,0
Massa do Ho_2O_3 (mg)	170	100	120
^{166}Ho retido (%)	95,40	93,47	98,70
^{166}Ho no rejeito da carga (%)	3,90	6,50	1,17
^{166}Ho eluído com HCl 0,1N (%)	0,70	0,01	0,13

Todas as resinas retiveram ^{166}Ho com bom rendimento, sendo os melhores resultados obtidos com a Amberlite.

As resinas marcadas com ^{166}Ho também foram submetidas à três testes de estabilidade: salina 0,9%, plasma sanguíneo e solução PBS. As resinas foram mantidas à 37°C durante 24 horas e, posteriormente, eluídas. Os resultados estão descritos na TAB. 8:

TABELA 8. Teste de Estabilidade das Resinas AG50W-X8 e Amberlite

Resina	Salina 0,9%	Plasma Sanguíneo	Solução PBS%
	% ^{166}Ho	% ^{166}Ho	^{166}Ho
AG50W-X2	0	1,3	0
AG50W-X8	0	0,5	0
Amberlite	0	3,6	0

O tamanho uniforme é um aspecto relevante da partícula, pois algumas delas se sedimentam no capilar ou, ao contrário, seguem para outro órgão. Este conceito também está relacionado com a densidade da partícula. Visto a importância desta

característica, a distribuição do tamanho das partículas foi medida através do granulômetro a laser ótico (Cilas,1064). Os resultados estão descritos na TAB. 9.

TABELA 9. Tamanho de Partícula das Resinas AG50W-X2, AG50W-X8 e Amberlite*

Resina	Diâmetro a 10% (μm)	Diâmetro a 50% (μm)	Diâmetro a 90% (μm)	Diâmetro médio (μm)
AG50W-X2	117,46	159,45	221,09	***
AG50W-x8	68,84	99,05	144,94	101,64
Amberlite**	14,94	52,58	92,95	53,94

* Valores cumulativos

** Medida após a trituração

*** Dado não fornecido

As FIGURAS 11, 12 e 13 mostram os gráficos de distribuição granulométrica das resinas citadas na TAB. 9.

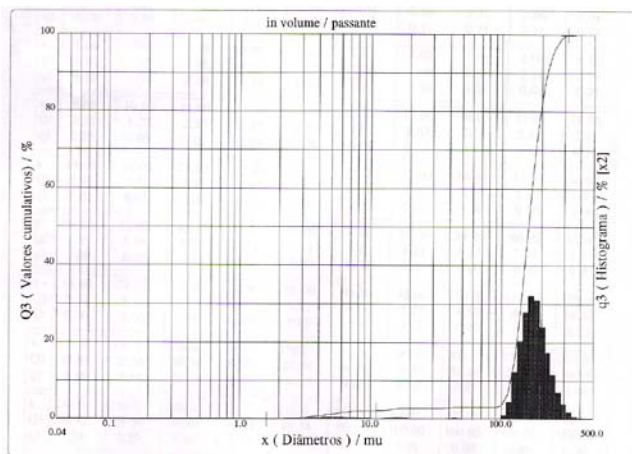


FIGURA 11. Distribuição Granulométrica – AG50W-X2

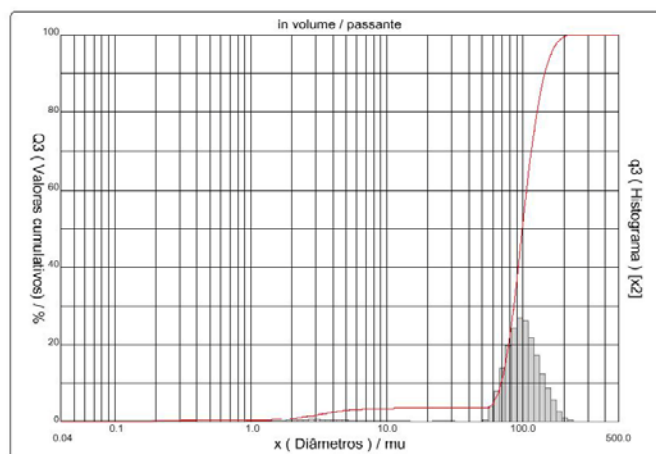


FIGURA 12. Distribuição Granulométrica – AG50W-X8

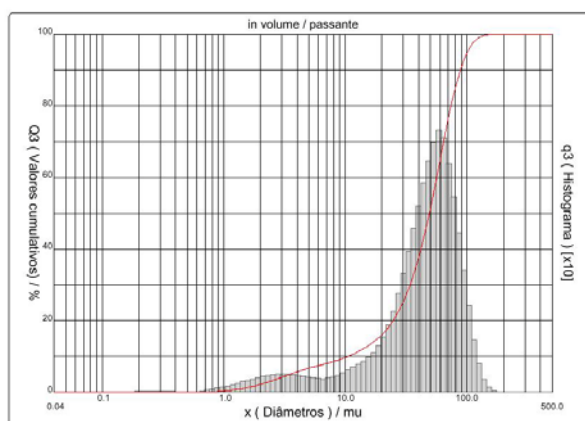


FIGURA 13. Distribuição Granulométrica – Amberlite

A resina Amberlite (600-800 μm) apresenta um tamanho de partículas muito superior ao tamanho desejado para terapia de tumores hepáticos ($\sim 200\mu\text{m}$). Por isso, ela foi triturada em liquidificador para reduzir seu tamanho. A FIG. 14 mostra o aspecto físico da resina antes e após ser triturada e a FIG.15 mostra imagens obtidas em um microscópio ótico da resina Amberlite antes e após a trituração. Pode ser observada a quebra dos grãos da resina, que não manteve mais a estrutura esférica, ideal para a terapia interna de tumores hepáticos. Apesar disso, ela manteve sua propriedade química de adsorver o ^{166}Ho .



FIGURA 14- Aspecto físico da resina Amberlite triturada (esquerda) em comparação com a resina em seu aspecto normal (direita).

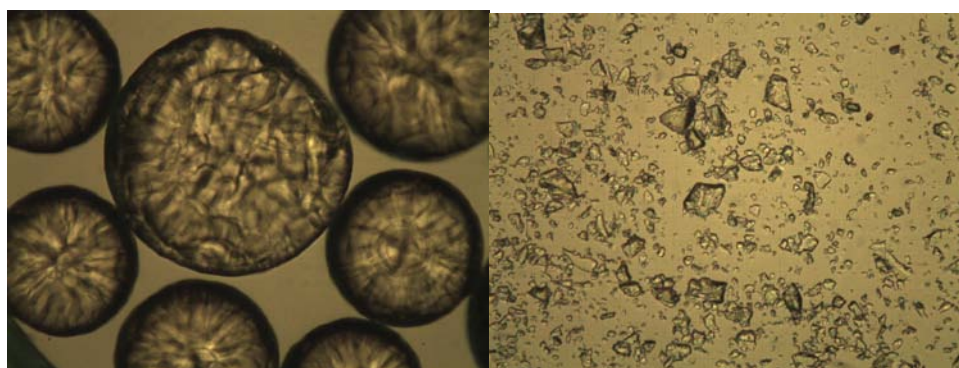


FIG.15- Foto da resina Amberlite antes (esquerda) e após (direita) a trituração, obtida em microscópio ótico.

4.2.2 - Resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ^{166}Ho

Foi analisada a retenção do ^{166}Ho nas resinas Sephadex e Sepharose. A eluição foi feita com salina 0,9%. A TAB. 10 mostra os resultados.

TABELA 10. Retenção do ^{166}Ho nas Resinas Sephadex e Sepharose

Resina	Sephadex	Sepharose
Massa da Resina	1,0g	1mL
Massa do $^{166}\text{Ho}_2\text{O}_3$ (mg)	170	100
^{166}Ho retido (%)	97,6	47,5
^{166}Ho no rejeito da carga (%)	2,3	3,2
^{166}Ho eluído com salina 0,9% (%)	2,7	49,3

A Sephadex apresentou uma ótima marcação com ^{166}Ho . Nos primeiros experimentos, apenas 47,5% da Sepharose foi marcada com ^{166}Ho . Foi observado experimentalmente que a placa porosa usada nas colunas não conseguiu reter toda a resina Sepharose (FIG.16), o que explica o resultado obtido.

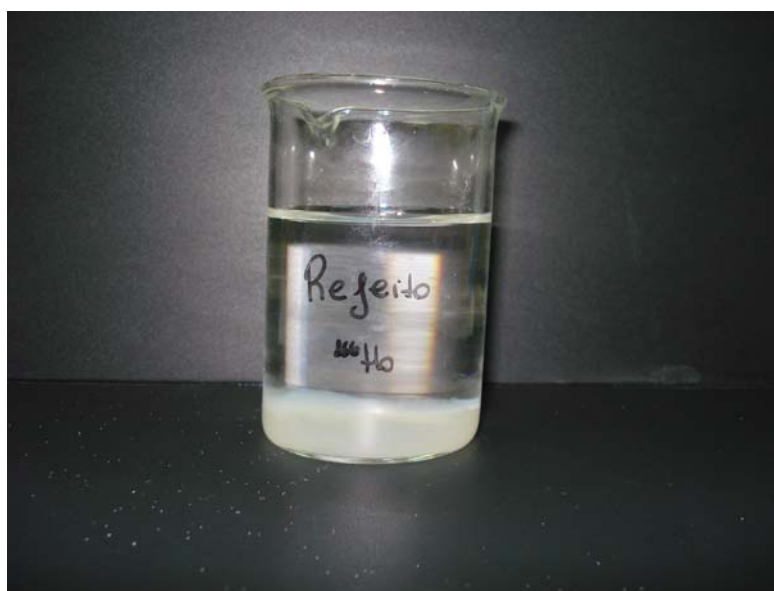


FIGURA 16. Rejeito extraído do processo de marcação da resina Sepharose com ^{166}Ho . A imagem mostra a presença de resina sedimentada no Becker.

Posteriormente, foram realizados estudos de marcação da resina Sepharose com ^{166}Ho usando filtro 0,22 μm para que toda a resina pudesse ficar retida. Além disso, a massa da resina foi aumentada em dez vezes, pois foi verificado que 10mL de resina correspondem à 100mg (experimentalmente) e 500mg de acordo com o fabricante, que forneceu informalmente a densidade correspondente a 0,05g/cm³. Este dado não é exato, é apenas uma aproximação. É importante ressaltar que a “GE Lifesciences” não produz a Sepharose para administração *in vivo* e dados (massa e densidade) como estes não são relevantes para sua aplicabilidade original (purificação). Foram realizados testes para saber qual a melhor relação entre a massa da resina e a massa do $^{166}\text{Ho}_2\text{O}_3$, os resultados estão apresentados na TAB. 11.

TABELA 11. Relação entre a massa da Sepharose e massa do $^{166}\text{Ho}_2\text{O}_3$

Massa da Sepharose (mL)	Massa do $^{166}\text{Ho}_2\text{O}_3$ (mg)	Rendimento de Marcação (%)
1	100	47,5
3	100	47,8
2	100	33,3
5	10*	70
5	50	96,7
10	100	97,2

* μg

Pode-se observar são necessários 10 mL de resina para adsorver 100 mg de Ho_2O_3 . O melhor resultado de marcação está apresentado na TAB. 11 e os detalhes da marcação estão expostos na TAB. 12.

TABELA 12. Retenção do ^{166}Ho na Resina Sepharose

Resina	Sepharose
Massa da Resina	10mL
Massa do $^{166}\text{Ho}_2\text{O}_3$ (mg)	100
^{166}Ho retido (%)	97,2
^{166}Ho no rejeito da carga (%)	1,0
^{166}Ho eluído com salina 0,9% (%)	1,8

O resultado de marcação foi excelente. A colocação do filtro de $0,22\mu\text{m}$ é a solução ideal para que a resina não ultrapassasse a placa porosa, como mostra a FIG. 17. Este experimento deixa claro que cada 10mL de Sepharose podem ser marcadas com 100mg de Ho_2O_3 , ou 87mg de Ho.



FIGURA 17. Rejeito extraído do processo de marcação da resina Sepharose com ^{166}Ho . A imagem mostra a eficiência da presença do filtro de $0,22\mu\text{m}$ no processo de marcação.

A TAB. 13 mostra os resultados dos ensaios de estabilidade das resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ^{166}Ho em vários meios após 24 horas.

TABELA 13. Teste de Estabilidade das Resinas Sephadex e Sepharose marcadas com ^{166}Ho

Resina	Salina	0.9%	Solução	Plasma	Glicose 5%
	% ^{166}Ho		PBS % ^{166}Ho	Sanguíneo % ^{166}Ho	% ^{166}Ho
Sephadex	0		0	0,95%	0
Sepharose	0		0	0	0

Os testes de estabilidade apresentaram ótimos resultados em ambas as resinas. Os testes realizados com a Sepharose foram anteriores as modificações citadas anteriormente. Mesmo assim os resultados foram positivos pelo fato que as partículas menores da resina passaram pela placa porosa no momento da marcação e que no teste de estabilidade, realizado 24 horas depois, restaram apenas as maiores partículas que não passaram por esta placa porosa.

A distribuição do tamanho das partículas das resinas Sepharose e Sephadex foi determinada através do um granulômetro a laser ótico (Cilas,1064). Os resultados estão descritos na Tabela 14.

**TABELA 14. Distribuição do Tamanho de Partícula das Resinas
Sephadex e Sepharose***

Resina	Diâmetro a 10% (μm)	Diâmetro a 50% (μm)	Diâmetro a 90% (μm)	Diâmetro médio (μm)
Sephade	66,88	96,84	136,00	96,25
Sepharo	7,87	31,86	45,80	28,73

* Valores cumulativos

A FIG. 18 mostra o gráfico da distribuição granulométrica da resina Sephadex.

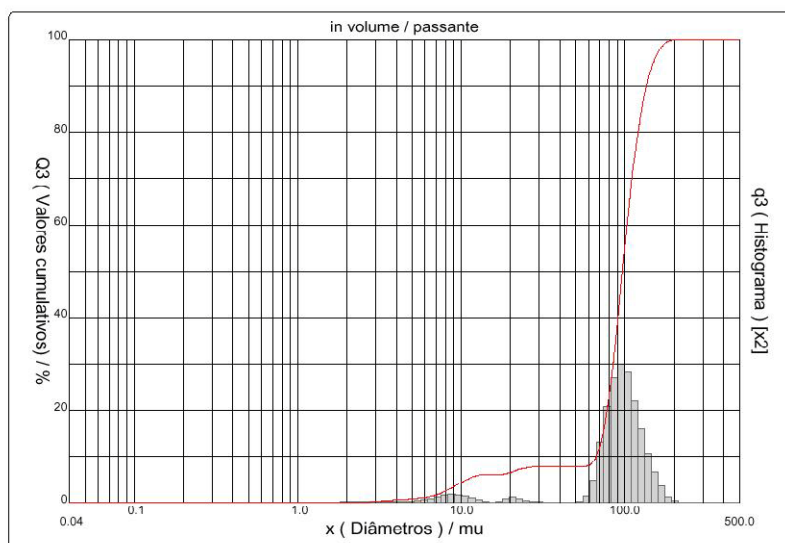


FIGURA 18. Distribuição Granulométrica – Sephadex

A FIG. 19 mostra o gráfico da distribuição granulométrica da resina Sepharose.

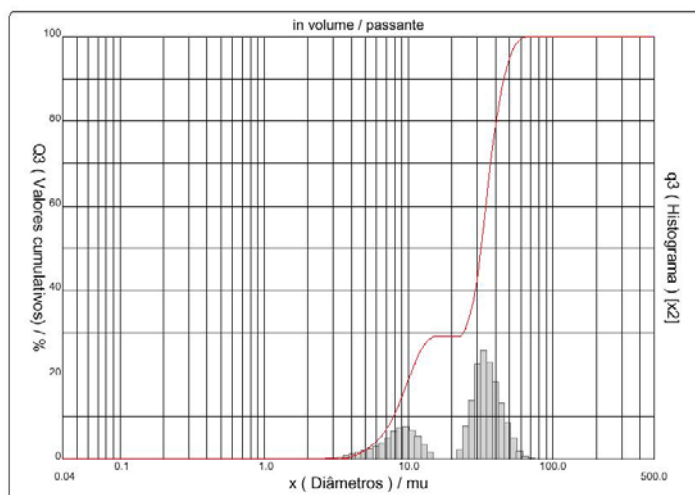


FIGURA 19. Distribuição Granulométrica – Sepharose

A resina Sepharose apresenta o tamanho ideal para a terapia de câncer de fígado. A retenção de ^{166}Ho foi muito boa e a presença de um pequeno número de partículas com tamanho menor que $20\mu\text{m}$ explica a presença pequena de ^{166}Ho na carga e no eluído com Salina 0,9%.

A FIG. 20 mostra imagens da resina Sephadex antes e após a marcação com ^{166}Ho em microscópio ótico, mostrando que não houve nenhuma alteração na estrutura da resina após a marcação com o ^{166}Ho .

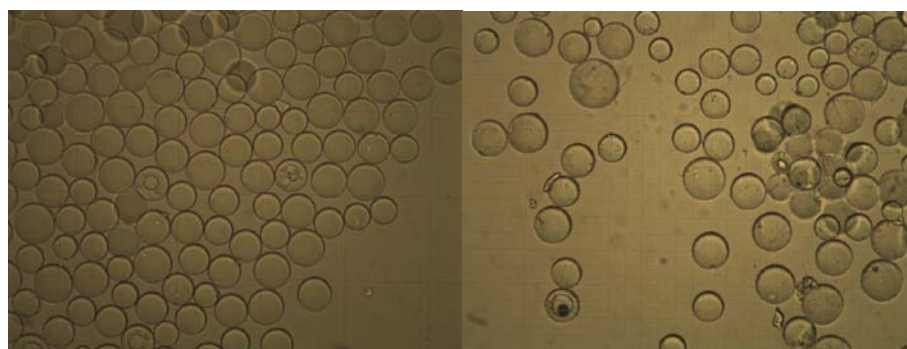


FIGURA 20 - Foto da Sephadex antes (esquerda) e após (direita) ser marcada com ^{166}Ho , obtida em microscópio ótico

A FIG. 21 mostra o aspecto físico da resina Sepharose em microscópio ótico. Tanto a FIG.20 como a FIG.21 mostram que ambas as resinas são esféricas e

uniformes, uma das características que as tornam possíveis para serem utilizadas *in vivo*.

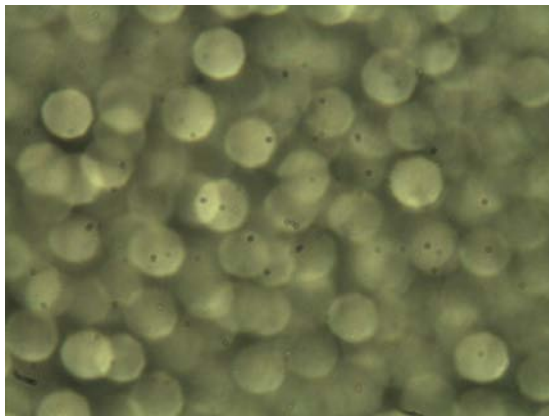


FIGURA 21. Foto da resina Sepharose obtida em microscópio ótico

4.2.3- Estimativa de Custo

Este foi baseado na comercialização de 6 doses de $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ por semana em 2005. Por isso, é válido enfatizar que este seria o valor aproximado se fossem comercializadas 6 doses de $^{166}\text{Ho-Sepharose}$ por semana. A TAB. 15 mostra a estimativa de custo de $^{166}\text{Ho-Sepharose}$.

TABELA 15 – Estimativa de custo aproximado do $^{166}\text{Ho-Sepharose}$

CUSTO TOTAL DO $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ (R\$) *	DOSE DE $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ (GBq)	CUSTO FINAL DO $^{166}\text{Ho-Sepharose}$ (R\$)
628,30	3 (100mCi)	610,3
647,32	5 (150mCi)	621,0
666,35	7 (200mCi)	631,7

* valores correspondentes a 2005

Os valores foram extrapolados variando o custo da matéria-prima. Como o custo dos materiais utilizados no processo de marcação da ^{166}Ho -Sepharose é menor em relação a produção do ^{153}Sm -EDTMP, o custo estimado do produto final diminui. No caso, do produto ser comercializado seria necessário um outro estudo mais detalhado da resina marcada com ^{166}Ho .

A avaliação do custo das microesferas ^{166}Ho -Sepharose foi realizada de maneira aproximada. O tratamento realizado em um hospital, localizado na Flórida (EUA), utilizando Therasphere®, teve o custo de US\$20.000,00 [97]. Excluindo os valores do custo da infra-estrutura e mão-de-obra de um hospital. O valor do radiofarmáco superaria muito o valor estimado se o Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP produzisse as microesferas marcadas (R\$621,00). De qualquer maneira, é necessário fazer uma análise de custo acurada para uma possível comercialização.

4.3 - Desenvolvimento de Microesferas de Ácido Láctico marcadas com ^{166}Ho

4.3.1 - 1ª Fase - Preparo do Acetilacetato de Ho (HoAcAc)

A primeira fase do desenvolvimento das microesferas de ácido láctico é a formação de cristais de Hólmio ligados a acetilacetona (AcAc). A estrutura contém 3 moléculas de AcAc e 2 moléculas de água para um átomo de Hólmio.

A TAB. 16 mostra os resultados obtidos no preparo de HoAcAc.

TABELA 16. Rendimento da Reação de Formação do HoAcAc

MASSA HoCl ₃ .6H ₂ O (g)	pH DA REAÇÃO	MODO DE SEPARAÇÃO	MASSA DO HoAcAc (g)	RENDIMENTO DA REAÇÃO (%)
1,0	8,50	Centrifuga	0,70	54
1,0	8,59	Centrifuga	0,74	57
1,0	8,80	Filtro Millipore 5µm	0,40	31
5,0	8,40	Centrifuga	2,96	46
1,0	8,47	Centrifuga	0,35	27
1,0	8,57	Filtro Millipore 5µm	0,34	26
2,0	8,65	Filtro Millipore 5µm	0,97	37
5,0*	8,42	Centrifuga e Filtro Millipore 5µm	4,67	35

*5,0g de Ho₂O₃

A separação dos cristais foi realizada através da centrifuga e/ou filtro Millipore 5µm e 0,22µm. A secagem foi feita na estufa, ao método de Nijssen *et al.*^[23] que secou o HoAcAc com gás nitrogênio. A temperatura foi variada de 30-60°C, mostrando que em 60°C os cristais secam e não perdem a integridade durante as 48 horas que permaneceram na estufa. Não foi testado o método utilizando gás nitrogênio. Todas estas variações resultaram em um rendimento médio de (39,0 ± 11,8)%. Houve mudanças de processos da reação de formação do HoAcAc até que fosse atingido o melhor resultado de rendimento, o que explica a disparidade de valores. Nos quatro últimos experimentos a média de rendimento foi de (31,25 ± 4,75)%, um pouco

menor em relação à todos os experimentos, porém, com uma reprodutibilidade melhor. De qualquer maneira, os resultados de rendimento da reação obtidos experimentalmente foram maiores que os obtidos por Mumper *et al.*^[7] (27,7%±4,9)%.)%. A TAB. 17 mostra a distribuição do tamanho das partículas determinada através do um granulômetro a laser ótico (Cilas,1064).

TABELA 17. Tamanho de Partícula do HoAcAc*

RESINA	DIÂMETRO A 10% (µm)	DIÂMETRO A 50%(µm)	DIÂMETRO A 90%(µm)
HoAcAc	90,36	140	214,73

* Valores cumulativos

A FIG. 22 mostra o gráfico da distribuição granulométrica dos cristais de HoAcAc.

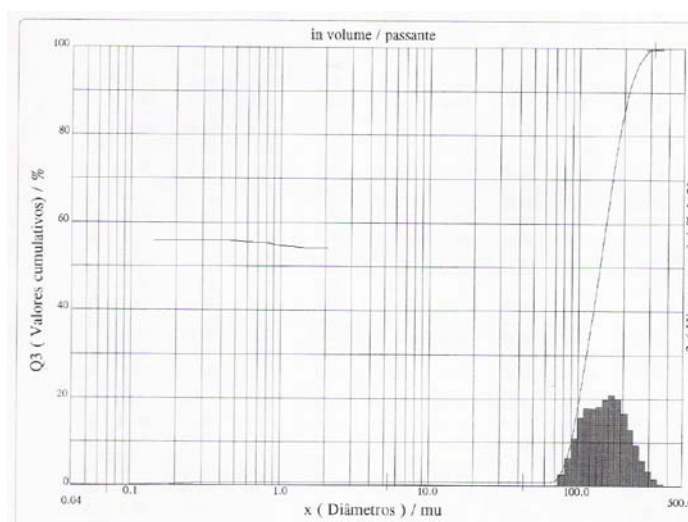


FIGURA 22. Distribuição Granulométrica – HoAcAc

4.3.2 – 2ª Fase - Síntese das microesferas de Ácido Lático com Hólmio

No trabalho de Nijsen et al. a formação das microesferas de ácido lático foi realizada em um sistema fechado, como mostra a FIG. 23. No Centro de Radiofarmácia, uma adaptação deste sistema foi feita, porém em um sistema aberto (FIG.24).

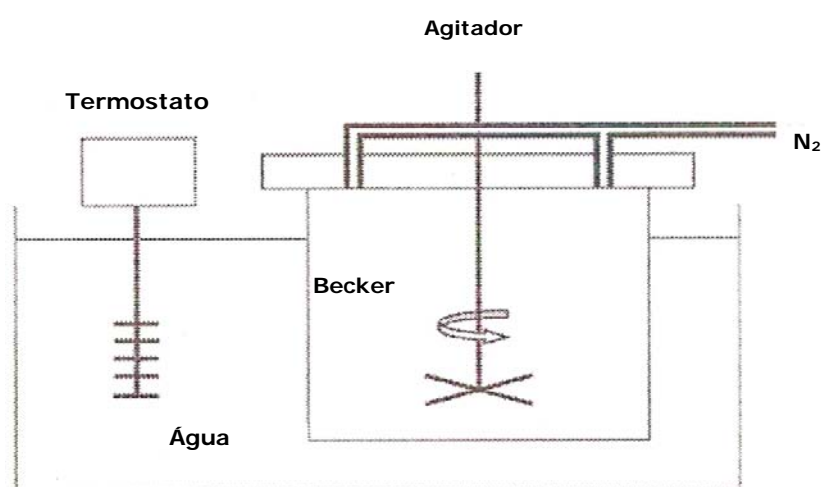


FIGURA 23. Aparato desenvolvido por Nijsen *et al.* para o desenvolvimento de microesferas de ácido lático marcadas com ^{166}Ho

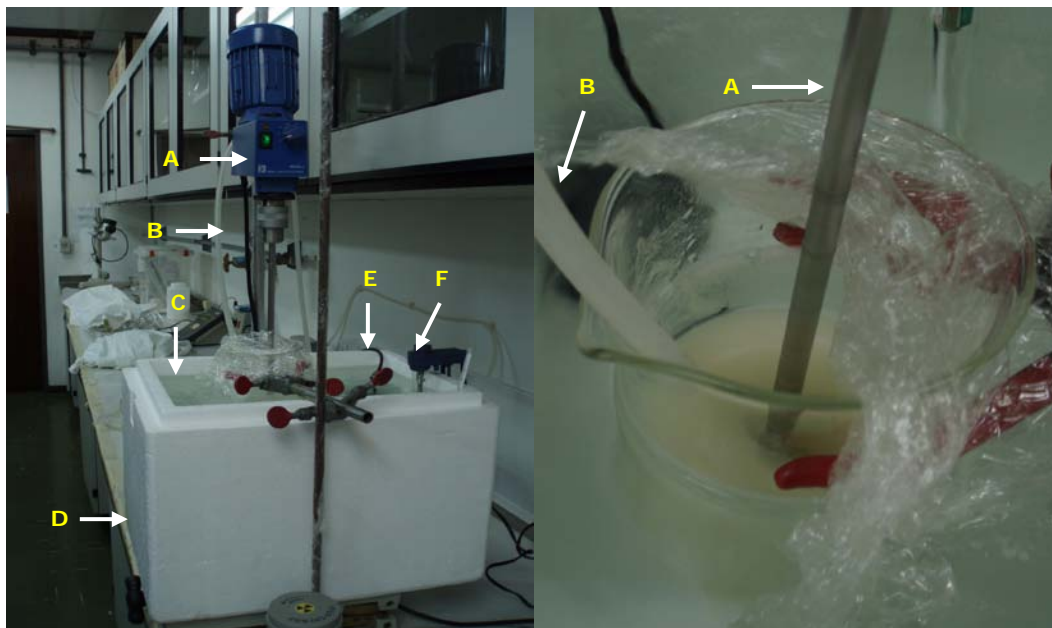


FIGURA 24. Aparato utilizado no desenvolvimento de microesferas de ácido láctico: (A) agitador mecânico, (B) gás Nitrogênio, (C) água, (D) caixa de isopor, (E) bomba de água, (F) termômetro.

Para manter a reação a 25°C, foi utilizada uma caixa de isopor e uma bomba de água para aquecimento do banho. A reação é endotérmica, por isso foi necessário o banho de aquecimento. Em relação a agitação da reação, a literatura sugere 500 rpm, que foi obtida com o agitador mecânico. A função do gás nitrogênio é ajudar no processo de evaporação do clorofórmio. A solução permaneceu em agitação em média por 4 horas, dependendo da quantidade de massa. Há uma relação diretamente proporcional entre o tempo de agitação e a massa. Este tempo de agitação é para que ocorra a completa evaporação do clorofórmio. Foi variada a velocidade e o tempo de agitação e a presença do gás nitrogênio.

Após a secagem do clorofórmio, a solução restante foi centrifugada. Porém poucas vezes ocorreu a separação das fases, sem a formação visível das microesferas de ácido láctico marcadas com ^{166}Ho como esperado. Uma melhoria no aparato experimental é necessária para a obtenção de melhores resultados. Há a necessidade de melhorias e continuidade do trabalho. A evaporação do clorofórmio ocorre de maneira lenta, em torno de 40 horas, de acordo com os autores Nijssen *et al.* [91]. Nos

experimentos deste trabalho a evaporação ocorreu em cerca de 4 horas. As massas utilizadas neste trabalho foram menores que as de literatura, mas de qualquer maneira, acredita-se que a rapidez da evaporação do solvente pode ter influenciado na pouca formação das microesferas de ácido láctico marcadas com Ho.

5- CONCLUSÃO

Em relação às microesferas de ácido lático, a 1ª fase, a síntese do HoAcAc, apresentaram bons resultados, superando os resultados apresentados na literatura. A 2ª fase, apesar das microesferas de ácido lático não se formarem, houve um progresso no aparato criado.

As resinas AG50W-X2 (100-200 mesh), AG50W-X8 (200-400 mesh), Amberlite IR 120 NA e CM Sephadex C-25 apresentaram ótimos resultados quando marcadas com ^{166}Ho e mostraram uma boa estabilidade *in vitro* nos meios estudados. Apesar de não terem o tamanho adequado para a terapia de tumores hepáticos as resinas AG50W-X2, AG50W-X8, Amberlite e Sephadex podem ser úteis para outros tipos de tratamentos, como para o tratamento de tumores de cabeça e pescoço. É válido lembrar que são necessários estudos nesta área para que se comprove a efetividade de microesferas radioativas nestes tipos de tumores.

Nos primeiros experimentos, a massa da Sepharose era pequena, e quando se aumentou a massa da Sepharose para a mesma quantidade de ^{166}Ho e introduziu o filtro Millipore 0,22 μm o resultado obtido foi excelente (97,2%). A Sepharose possui todas as características ideais para a terapia de tumores hepáticos a um valor justo.

Segundo os estudos de Tuner *et al.*[50], a dose padrão de microesferas marcadas com ^{166}Ho para uso em humano é de 5,8GBq (157mCi). Pelos estudos realizados neste trabalho, é possível reter cerca de 0,8g de Ho (^{166}Ho) por grama de resina. Assumindo a maior atividade específica obtida (TAB. 5) nas condições atuais do Reator Nuclear IEA-R1, 42,96 Ci ^{166}Ho /gHo, seria possível marcar 100mg de resina com 343mCi (~12GBq) de ^{166}Ho , mais do que o suficiente para aplicações terapêuticas. No caso da resina Sepharose marcada com ^{166}Ho , seguindo estes mesmos dados de irradiação, é possível obter a atividade de 343mCi (~12GBq) para cada 0,45mL de resina marcada com ^{166}Ho . Existe uma diferença cinco vezes maior entre a massa (g) por volume (mL) da resina verificado experimentalmente e o dado

de acordo com o fabricante, esta diferença precisa ser estudada para que se possam obter dados mais precisos.

Existem diversas técnicas no combate a redução de tumores hepáticos, cada qual com suas vantagens e desvantagens. A radioterapia interna seletiva é uma técnica inovadora que beneficia pacientes com metástases hepáticas e tumores de fígado primário. Com este estudo, pode-se verificar que a implantação desta técnica no país é possível e a um valor justo. É claro que ainda são necessários mais estudos essenciais, como o comportamento *in vivo* das microesferas marcadas.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- RADIOISOTOPES IN MEDICINE. Nuclear Issues Briefing Paper 26. Disponível em <www.uic.com.au/nip26.htm>. Acesso em 02/08/2005.
- 2- BUCHANAN, W.S; SZABO, Z.; WAGNER, H.R.; BUCHANAN, J.W. **Principles of Nuclear Medicine**. 2.ed. Filadélfia. Pág.1022-1026, 1995.
- 3- VEIGA, J.M. Radiofármacos utilizados em Radioterapia **Revista de la O.F.I.L.** v. 13, p. 39-42, 2003.
- 4- DANI,R. **Gastroenterologia Essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.513.
- 5- Disponível em: <http://www.msd-brazil.com/msdbrazil/patients/manual_Merck/sec10_114.html> Acesso em 02/05/2008.
- 6- BIERMAN,H.R.; BYRON,R.L.; KELLEY,K.H.; GRADY,A. Studies on the blood supply of tumours in man. III. Patterns of the liver by hepatic arteriography *in vivo*. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.12, p.107-131, 1951.
- 7- CASTRO,L. P.; SAVASSI-ROCHA,P. R.; RODRIGUES,M. A.; MURAD,A. M. **Tópicos em Gastroenterologia: câncer do aparelho digestivo**. Rio de Janeiro: Medsi, 2002, p.457.

8- VENTE, M. A. ; HOBDELINK, M. G.; van het SCHIP, A. D.; ZONNENBERG, B. A.; NIJSEN, J. F. Radionuclid liver cancer therapies: from concept to current clinical status. **Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 441-459, 2007.

9- GRAY, B.; VAN HAZEL, G.; BUCK, M.; PATON, G.; BURTON, M.; ANDERSON, J. Treatment of colorectal liver metastases with SIR-spheres plus chemotherapy. **GI Cancer** , v.3, p. 249-57, 2000.

10- LAU, W. Y.; HO, S.; LEUNG, T.W. *et al.* Selective internal radiation therapy for nonresectable hepatocellular carcinoma with intra-arterial infusion of ⁹⁰Y microspheres. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, v.40, p. 583-92, 1998.

11- PARKIN, D. M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. Global Cancer Statistics, 2002. **Ca Cancer J. Clin.**, vol.55, p. 74, 2005.

12- SHERLOCK,S.; FOX,F. A.; NIAZI,S. P *et al.* Chronic liver disease and primary liver-cell cancer with hepatitis-associated (Australia) antigen in serum. **Lancet**, v.i, p.1243, 1970.

13- GIOVANNUCI, E.; RIMM, E. B.; STAMPFER, M. J.; COLDITZ, G. A.; ASCHERIO, A.; WILLET, W. C. Intake of Fat, Meat, and Fiber in Relation to Risk of Colon Cancer in Men. **Cancer Res.**, v. 54, p. 2390, 1994.

14- INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Disponível em <www.inca.gov.br>. Acesso em 04/02/2008.

15- LE MARCHAND, L.; WILKENS, L. R.; KOLONEL, L.N.; HANKIN, J.H.; LYU, L.C. Associations of sedentary lifestyle, obesity, smoking, alcohol use, and diabetes with the risk of colorectal cancer. **Cancer Res.**, v. 57, p. 4787, 1997.

16- BENNET, J. J.; CAO, D.; POSNER, M. C. Determinants of unresectability and outcome of patients with occult colorectal hepatic metastases. *J. Surg. Oncol.*, v. 92, p. 64-69, 2005.

17- CORMIER, J. N.; THOMAS, K. T.; CHARI, R. S.; PINSON, C. W. J. Management of Hepatocellular Carcinoma. *Gastrointest. Surg.*, v.10, p.761-780, 2006.

18- LLOVET, J.M.; BUSTAMANTE, J.; CASTELLS, A.; VILANA, R.; AYUSO, M.; SALA, M.; BRU, C.; RODES, J.; BRUIX, J. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: Rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. *Hepatology*, v.29, p.62-67, 1999.

19- CROMHEECKE, M.; KONINGS, A. W.; SZABO, B. G.; HOEKSTRA, H. J. Liver tissue tolerance for irradiation: experimental and clinical investigations. *Hepatogastroenterology*, v.47, p.1732-40, 2000.

20- DAWSON, L. A.; MCGINN, C. J.; LAWRENCE, T. S. Conformal chemoradiation for primary and metastatic liver malignancies. *Semin. Surg. Oncol.*, v.21, p.249-255, 2003.

21- FUSS, M.; SALTER, B. J.; HERMAN, T. S.; THOMAS, C. R. External beam radiation therapy for hepatocellular carcinoma: Potential of intensity-modulated and image-guided radiation therapy. *Gastroenterology*, v.127, p.S206-S207, 2004. Supplement 1

22- LAWRENCE, T. S.; ROBERTSON, J. M.; ANSCHER, M. S.; JIRTLE, R. L.; ENSMINGER, W. D.; FAJARDO, L. F. Hepatic toxicity resulting from cancer treatment. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, v.31, p.1237-48, 1995.

23- SALEM, R.; HUNTER, R.D. Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma: a review. *Int. J. Oncology Biol. Phys.*, v. 66, p. S83-S88, 2006. Supplement 2.

24- TEN HAKEN, R. K.; LAWRENCE, T. S.; Mcshan, D. L.; TESSER, R. J.; FRAASS, B. A.; LICHTER, A. S. Technical considerations in the use of 3-D beam arrangements in the abdomen. *Radiother. Oncol.*, v.22, p.19-28, 1991.

25- LIU, M. T.; LI, S. H.; CHU, T. C.; HSIEH, C. Y.; WANG, A. Y.; CHANG, T. H.; PI, C. P.; HUANG, C. C.; LIN, J. P. Three-dimensional conformal radiation therapy for unresectable hepatocellular carcinoma patients who had failed with or were unsuited for transcatheter arterial chemoembolization. *Jpn. J.Clin. Oncol.*, v.34, p.532-39, 2004.

26- BEN-JOSEF, E.; NORMOLLE, D.; ENSMINGER, W. D.; WALKER, S.; TATRO, D.; TEN HAKEN, R. K.; KNOL, J.; DAWSON, L. A.; PAN, C.; LAWRENCE, T. S. Phase II Trial of High-Dose Conformal Radiation Therapy With Concurrent Hepatic Artery Floxuridine for Unresectable Intrahepatic Malignancies. *J. Clin. Oncol.*, v.23, p.8739-47, 2005.

27- LAWRENCE, T. S.; TESSER, R. J.; TEN HAKEN, R. K. An application of dose volume histograms to the treatment of intrahepatic malignancies with radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, v.19, p.1041-7, 1990.

28- PRUTHI, J.; MEDKIFF, K. A.; ESRASON, K. T.; DONAVAN, J. A.; YOSHIDA, E. M. *et al.* Analysis of causes of death in liver transplant recipients who survived more than 3 years. *Liver Transpl.*, v.7, p.811-5, 2001.

29- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS. *Registro Brasileiro de Transplantes*, v.6, p.1-21, 2000.

30- MAZARIEGOS, G.V.; MOLMENTI, E.P.; KRAMER, D.J. Early complications after orthotopic liver transplantation. **Surg. Clin. North Am.**, v.79, p. 109-22, 1999.

31- MILLIS, J.M. Treatment of liver allograft rejection. **Liver Transpl. Surg.**, v.5, p. S98-S106, 1999. Supplement 1.

32- COELHO, J. C.; PAROLIN, M. B.; MATIAS, J. E.; JORGE, F. M.; CANAN L. W. Causa de óbito tardio em transplantados de fígado. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.49, p. 177-180, 2003.

33- MARINHO, A. Um estudo sobre as filas para transplantes no Sistema Único de Saúde brasileiro. *Cad. Saúde Pública*, v. 22, 2006. Disponível em <http://www.scielo.org/scielo.php?pid=S0102-311X2006001000029&script=sci_arttext&tlng=pt>

34- FREITAS, A. C.; PAROLIN, M. B.; STADNIK, L.; COELHO, J. C. Carcinoma hepatocelular: impacto do tempo em lista e das formas de tratamento pré-operatório na sobrevida do transplante de fígado cadavérico na era pré-MELD em um centro no Brasil. **Arq. Gastroenterol.**; v.44, 2007. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032007000300002>. Acesso em 08/05/2008.

35- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS. Disponível em <www.abto.org.br>. Acesso em 10/04/2008.

36- CASTRO, L. P.; SAVASSI-ROCHA, P. R.; RODRIGUES, M. A.; MURAD, A. M. **Tópicos em Gastroenterologia**: câncer do aparelho digestivo. Medsi, Rio de Janeiro, 2002. p.460-470.

37- KAN, Z.; SATO, M.; IVANCEV, K. *et al.* Distribution and effect of iodized poppyseed oil in the liver after hepatic artery embolization: experimental study in several animal species. **Radiology**, v.186, p.861-866, 1993.

38- NAKAMURA, H.; HASHIMOTO, T.; OI, H. *et al.* Transcatheter oily hemoembolization of hepatocellular carcinoma. **Radiology**, v.170, p.783-786, 1989.

39- UFLACKER, R. **Radiologia Intervencionista**. 1.ed. São Paulo, 1987, p.69-99.

40- KAMADA, K.; NAKANISHI, T.; KITAMOTO, M. *et al.* Long-term prognosis of patients undergoing transcatheter arterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: comparison of cisplatin lipiodol suspension and doxorubicin hydrochloride emulsion. **J. Vasc. Interv. Radial.**, v.72, p.847-54, 2001.

41- HUNT, T. M.; FLOWERDEW, A. D. S.; BIRCH, S. J. *et al.* Prospective randomized controlled trial of hepatic arterial embolization or infusion chemotherapy with 5-fluorouracil and degradable starch microspheres for colorectal liver metastasis. **Br. J. Surg.**, v.77, p.779-82, 1990.

42- FIORENTINE, G.; GIOVANIS, P.; LEONI, M. Amifostine (Ethyol) as modulator of hepatic and biliary toxicity from intraarterial hepatic chemoembolization: results of a phase I study. **Hepatogastroenterology**, v.48, p.313-16, 2001.

43- CHUANG, V.P.; WALLACE, S. Hepatic artery embolization in the treatment of hepatic neoplasm. **Radiology**, v.48, p.51-8, 1981.

44- AJANI, J.A.; CARRASCO, C.H.; CHARNSANGAJEV, C. *et al.* Islet cell tumors metastatic to the liver: effective palliation by sequential hepatic artery embolization. **Ann. Intern. Med.**, v.1.807, p.340-344, 1988.

45- LIVRAGHI, T.; GOLDBERG, S.N.; LAZZARONI, S. *et al.* Saline-enhanced radio-frequency tissue ablation in the treatment of liver metastases. ***Radiology***, v.202, p.205-210, 1997.

46- CONSULTANTS MEETING. Production of therapeutic radionuclides and radiopharmaceuticals for target therapy. Vienna, Áustria. ***IAEA Headquarters***, 2007.

47- ARAUJO, E.B. ***Preparação de radiofármacos a partir de radioisótopos produzidos em reator e ciclotron.*** Notas de aula. 06 mar. 2006 – 28 maio 2006.

48- WANG,J.S.; TING,G. The status and prospects of radiopharmaceutical research for target radiotherapy in taiwan. ***Ann Nucl Med Sci.*** v.15, p.195-200, 2002.

49- Holmium-166. OAK Ridge National Laboratory. Disponível em <http://www.ornl.gov/sci/isotopes/r_ho166.html >. Acesso em 12/04/2008.

50- TUNER, J. H.; CLARINGBOLD, P. G.; KLEMP, P. F. B.; CAMERON ,P. J.; MARTINDALE, A. A.; GLANCY, R. J.; NORMAN, P. E.; HETHERINGTON, E. L.; NAJDOVSKI, L.; LAMBRECHT, R. M. ¹⁶⁶Ho-microsphere liver radiotherapy: a preclinical SPECT dosimetry study in the pig. ***Nucl. Med. Comm.***, v.15, p.545-553,1994.

51- MUMPER, R. J.; RYO, U. Y.; JAY,M. Neutron activated holmium-166-poly(L-lactic acid) microspheres: a potential agent for the internal radiation therapy of hepatic tumours .***J Nucl Med.***, v.32, p.2139,1991.

52- LAHIRI, S.; VOLKERS, K. J.; WIERCZINSKI, B. Production of ^{166}Ho through ^{164}Dy (n,γ) ^{165}Dy (n, γ) ^{166}Dy (β^-) ^{166}Ho and separation of ^{166}Ho . ***Appl. Radiat. Isot.***, v.61, p.1157-61,2004.

53- DADACHOVA, E.; MIRZADEH, S.; LAMBRECHT, R. M.; HETHERINGTON, E. L.; KNAPP Jr., R. Separation of carrier-free holmium-166 from neutron irradiated dysprosium targets. ***Anal. Chem.***, v.66, p.4272,1994.

54- WILLMOTT, N.; DALY, J. M. ***Microspheres and Regional Cancer Therapy***. CRC Press. USA, 1994.

55- HEBERT, J. C.; ECKELMAN, W. C.; NEUMANN, R. D. ***In Nuclear Medicine: Diagnosis and Therapy***. Nova York, N.Y.: Thieme Medical Publishers, Inc.,1996.

56- NIJSEN, J. F.; VAN HET SCHIP, A. D.; HENNINK, W. E. Advances in nuclear oncology: microspheres for internal radionuclide therapy of liver tumors. ***Curr. Med. Chem.*** v.9, p.73-82,2002.

57- BLANCHARD, R. J.; LaFAVE, J. W.; KIM, Y. S.; FRYE, C. S.; RITCHIE, W. P.; PERRY, J. F., Jr. Treatment of patients with advanced cancer utilizing ^{90}Y microspheres. ***Cancer***, v.18, p.375, 1965.

58- MDS NORDION. Disponível em <www.therasphere.com> Acesso em 02/05/2008.

59- LaFAVE, J.W.; GROTENHUIS, L.; KIM, Y.S.; MACLEAN, L.D.; PERRY, J.F., Jr. ^{90}Y - tagged microspheres in adjuvant tumor therapy. ***Surgery***, v.53, p.778-83, 1963.

60- BLANCHARD, R.J.; GROTENHUIS, L.; LaFAVE, J.W.; FRYE, C.S.; PERRY, J.F. Treatment of experimental tumours. *Arch. Surg.*, v.89, p.406-09, 1964.

61- BLANCHARD, R.J.; MORROW, J.M.; SUTHERLAND, J.B. Treatment of liver tumors with yttrium-90. microspheres alone. *Can. Assoc. Radiol. J.*, v.40, p.206-10, 1989.

62- BLANCHARD, R.J.; LaFAVE, J.W.; KIM, Y.S.; FRYE, C.S.; RITCHIE, W.P.; PERRY, J.F., Jr. Treatment of patients with advanced cancer utilizing ^{90}Y microspheres *Cancer*, v.18, p.375-80, 1965.

63- ARIEL, L.M. Treatment of Inoperable Primary Pancreatic and Liver Cancer by the Intra-Arterial Administration of Radioactive Isotopes (^{90}Y Radiating Microspheres) *Ann. Surgery*, p.267-78, 1965.

64- GRADY, E.D. Internal radiation therapy of hepatic. *Dis. Col. Rect.*, v.22, p.371-5, 1979.

65- MANTRAVADI, R. V.; SPIGOS, D. G.; TAN, W. S.; FELIX, E. L. Intraarterial yttrium 90 in the treatment of hepatic malignancy. *Radiology*, v.142, p.783-6, 1982.

66- WOLLNER, L.; KNUTSEN, C.; SMITH, P.; PRIESKORN, D.; CHRISP, C.; ANDREWS, J.; JUNI, J.; WARBER, S.; KLEVERING, J.; CRUDUP, J. Effects of hepatic arterial yttrium-90 glass microspheres in dogs. *Cancer*, v.61, p.1336-44, 1988.

67- KENNEDY, A. S.; NUTTING, C.; COLDWELL, D.; GAISER, J.; DRACHENBERG, C. Pathologic response and microdosimetry of ^{90}Y microspheres in man: Review of four explanted whole livers *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, v.60, p.1552-1563, 2004.

68- ANDREWS, J. C.; WALKER, S. C.; ACKERMANN, R. J.; COTTON, L. A.; ESMINGER, W. D.; SHAPIRO, B. Hepatic Radioembolization with yttrium-90 containing glass microspheres: preliminary results and clinical follow-up. *J. Nucl. Med.*, v.35, p.1637-1644,1994.

69- MDS NORDION. ***MDS Nordion Establishes European Centers of Excellence for Innovative Liver Cancer Therapy.*** Disponível em <[www.nordion/therasphere/news/Therasphere News Release Feb 08 2007.pdf](http://www.nordion/therasphere/news/Therasphere%20News%20Release%20Feb%2008%202007.pdf)>. Acesso em 29/01/2008.

70- SALEM, R.; HUNTER, R. D. Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma: a review. *Int. J. Oncology Biol. Phys.*, v. 66,p. S83-S88, 2006. Supplement 2.

71- DANCEY, J. E.; SHEPHERD, F. A.; PAULO, K. Treatment of nonresectable hepatocellular carcinoma with intrahepatic ⁹⁰Y-microspheres. *J. Nucl. Med.*, v. 41, p.1673-1681, 2000.

72- CARR, B. I. Hepatic arterial ⁹⁰Y glass microspheres (Therasphere) for unresectable hepatocellular carcinoma: Interim safety and survival data on 65 patients. *Liver Transplant.*, v.10, p.S107-S110,2004. Supplement.

73- SALEM, R.; LEWANDOWSKI, R.; ROBERTS, C. Use of yttrium-90 microspheres glass microspheres for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma in patients with portal vein thrombosis. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, v. 15, p. 335-345, 2004.

74- WONG, C. Y.; SALEM, R.; RAMAN, S.; GATES, V. L.; DWORKIN, H. J. Evaluating ⁹⁰Y-glass microsphere treatment response of unresectable colorectal liver

metastases by [18F]FDG PET: a comparison with CT or MRI. ***Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging***, v.29, p.815-20, 2002.

75- MURTHY, R.; NUNEZ, R.; SZKLARUK, J.; ERWIN, W.; MADOFF, D. C.; GUPTA, S.; AHRAR, K.; WALLACE, M. J.; COHEN, A.; COLDWELL, D. M.; KENNEDY, A. D.; HICKS, M. D. Yttrium-90 Microsphere Therapy for Hepatic Malignancy: Devices, Indications, Technical Considerations, and Potential Complications. ***Radiographics***, v.25, p.S41-S55, 2005. Supplement 1.

76- SIRTEX MEDICAL LIMITED. Disponível em <www.sirtex.com.au> Acesso em 02/05/2008.

77- STUBBS, R. S.; CANNAN, R. F.; MITCHELL, A. W. Selective internal radiation therapy with ⁹⁰Y microspheres for extensive colorectal liver metastases. ***J. Gastrointestinal Surg.***, v. 5, p. 294-302, 2001.

78- META-ANALYSIS GROUP IN CANCER. Reappraisal of hepatic arterial infusion in treatment of nonresectable liver metastases from colorectal cancer. ***J. Natl. Cancer Inst.***, v.88, p.252-258, 1996.

79- NIJSEN, J. F.; ZONNENBERG, B. A.; WOITTIEZ, J. R.; ROOK, D. W.; SWILDENS-VAN WOUDEBERG, I. A.; VAN RIJK, P. P.; VAN HET SCHIP, A. D. Holmium-166 poly lactic acid microspheres applicable for intra-arterial radionuclide therapy of hepatic malignancies: effects of preparation and neutron activation techniques. ***Eur. J. Nucl. Med.***, v.26, p.699-704,1999.

80- SEPPENWOOLDE, J. H.; NIJSEN, J. F.; BARTELS, L. W.; ZIELHUS, S. W.; VAN HET SCHIP, A. D.; BAKKER, C. J. Internal biodistribution of holmium-loaded microspheres in animal models. ***Magn. Reson. Med.***, v.53, p.76-84, 2004.

81- IDEZUKI, Y.; SUGIURA, M.; HATANO, S.; KIMOTO, S. Hepatography for detection of small tumor masses in liver: experiences with oily contrast medium. *Surgery*, v.60, p.566-72, 1966.

82- BOUCHER, E.; GARIN, E.; GUYLLIGOMARC, A.; OLIVIÉ, D.; BOUDJEMA, K.; RAOUL, J.L. Adjuvant intra-arterial injection of iodine-131-labeled lipiodol after resection of hepatocellular carcinoma, *Hepatology*, v. 38, p. 1237-1241, 2007.

83- LANGER, L. F.; GONZALEZ, A. M.; AMORIM, J. E.; AJZEN, S. A. Contribuição da quimioembolização de hepatocarcinomas em pacientes cirróticos na espera pelo transplante hepático. *Radiol. Bras.*; v.38, p.1-6, 2005.

84- SENE, F.; MARTINELLI, J.R.; OKUNO, E. Synthesis and characterization of phosphate glass microspheres for radiotherapy applications. In: International Nuclear Atlantic Conference, 2007. Santos. *Anais eletrônicos*: E08_1640. Santos, ABEN. CD-ROM.

85- HÄFELI, U.O.; CASILLAS, S.; DIETZ, D.W.; PAUER, G.J.; RYBICKI, L.A.; CONZONE, S.D.; DAY, D.E. Hepatic tumor embolization in rat model using radioactive rhenium ($^{186}\text{Re}/^{188}\text{Re}$) glass microspheres. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, v. 44, p. 189-99, 1999.

86- WANG, J.S.; LIN, W.Y.; CHEN, M.N.; CHI, C.S.; CHEN, J.T.; HO, W.; HSICH, B.T.; SHEN, L.H.; TSAI, Z.T.; TING, G.; MIRZADEH, S.; KNAPP, F.F. Intratumoral injection of Rhenium-188 microspheres in an animal model of hepatoma. *J. Nucl. Med.*, v. 39, p. 1752-57, 1998.

87- LOUWL, W. K.; DORMEH, C.; VAN RENSBURG, A. J.; HUGO, N.; ALBERTS A. S.; FORSYTH, O. E.; BERVELEY, G.; SWEETLOVE, M. A.; MARAIS, J.; LÖTTER, M. G.;

VAN ASWEGEN, A. Evaluation of Samarium-153 and Holmium-166-EDTMP in the normal model. *J. Nucl. Med. Biol.*, v.23, p.935-40, 1996.

88- BAYOUTH, J. E.; MACEY, D. J.; KASI, L. P.; GARLICH, J. R.; MCMILLAN, K.; DIMOPOULOS, M. A.; CHAMPLIN, R. E. Pharmacokinetics, dosimetry and toxicity of Holmium-166-DOTMP for bone marrow ablation in multiple myeloma. *J. Nucl. Med.*, v. 36, p. 730-7, 1995.

89- SUSUKI, Y. S.; MOMOSE, Y.; HIGASHI, N.; SHIGEMATSU, A.; PARK, K. B.; KIM, Y. M.; KIM, J. R.; RYU, J. M. Biodistribution and kinetics of holmium-166-chitosan complex (DW-166HC) in rats and mice. *J. Nucl. Med.*, v.39, p. 2161-66,1998.

90- SONG, J.; SUH, C. H.; PARK, Y. B.; LEE, S. H.; YOO, N. C.; LEE, J. D.; KIM, K. H. A phase I/II study on intra-articular injection of holmium-166-chitosan complex for the treatment of knee synovitis of rheumatoid arthritis. *Eur. J. Nucl. Med. Molec. Imag.* 28:489-497,2001.

91- NIJSEN, J. F.; ROOK, D. W.; BRANDT, C. J.; MEIJER, R.; DULLENS, H. F.; ZONNENBERG, B. A.; KLERK, J. M.; VAN RIJK, P. P.; VAN HET SCHIP, A. D. Targeting of liver tumour in rats by selective delivery of holmium-166 loaded microspheres: a distribution study. *Eur. J. Nuc.I Med.*, v. 28, p.743-9, 2001.

92- NIJSEN, J. F.; ROOK, D. W.; WESTENDORP, B.; BRANDT, C. J.; ZONNENBERG, B. A.; VAN RIJK, P. P.; HENNINK, W.F.; VAN HET SCHIP, A. D. Radioactive holmium loaded poly (L-lactic acid) microspheres for treatment of hepatic malignances: efficacy in rabbits. *J. Cr. Maxilo. Sur.*, v.6, p. 63-88, 2001.

- 93- DOW CHEMISTRY. Disponível em
<http://www.dow.com/liquidseps/prod/pt_lanthan.htm>. Acesso em: 08/05/2008
- 94- RIEMAN III, W. E WALTON, H.F. **Ion exchange in analytical chemistry**; New York, Pergamon Press. 1970.
- 95- SANTOS, M.M.; **Sistemas automatizados empregando resina de troca iônica para determinação dos íons Amônio, Cloreto e Sulfato em águas naturais** 1991. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- 96- MANTOURA, R.F. E RILEY, J.P. The analytical concentration of humic substances from natural waters. **Anl. Chim. Acta**, v. 76, p. 97-106, 1975
- 97- ST. PETERSBURG TIMES. In cancer war, a new ally. Disponível em
<http://www.sptimes.com/2002/12/23/TampaBay/In_cancer_war_a_new_.shtml>.
Acesso em 08/05/2005.
- 98- OKUDA, K.; OHTSUKI, T.; OBATA, H.; et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment: study of 850 patients. **Cancer**, v. 56, p. 918-928, 1985.