

**Produção de microesferas cerâmicas incorporadas com
o radioisótopo ^{166}Ho visando sua aplicação no
tratamento de câncer de fígado por radioembolização**

Coordenador: Dr. Luis Antonio Genova

EDITAL INTERNO *InterCentros* – DPDE/IPEN Nº 5/2018

07/2018

Produção de microesferas cerâmicas incorporadas com o radioisótopo ^{166}Ho visando sua aplicação no tratamento de câncer de fígado por radioembolização

Atividade 230 - Fontes Radioativas e Aplicações das Radiações na Saúde

INTRODUÇÃO

O fígado é um órgão que, por receber todo o sangue drenado do trato digestivo, torna-se propício à instalação de neoplasias, sobretudo as metástases, que podem ser originadas de uma ampla gama de tumores primários, como o colorretal, gastrointestinal, de mama e neuro-endócrinos.^[1] A cada ano mais de 1 milhão de pessoas são diagnosticadas com câncer hepático primária ou secundária, e estima-se que 50% dos pacientes com tumor colorretal primário desenvolverá metástases hepáticas. Câncer primário de fígado é o sexto câncer mais comum em todo o mundo, sendo apenas 5% dos atingidos apresentam sobrevida acima de 5 anos.^[2]

A partir do surgimento da metástase hepática, as chances de cura do paciente se reduzem significativamente e apenas de 20 a 30% dos mesmos são elegíveis para opções de tratamento com potencial de cura, como a hepatectomia ou ablação por radiofrequência, havendo ainda terapias paliativas, principalmente a quimioterapia sistêmica, mas que podem produzir severos efeitos colaterais.^[3]

Baseando-se no princípio de que os tumores do fígado são quase exclusivamente vascularizados pela *artéria hepática*, enquanto o tecido saudável do fígado recebe a maior parte de seu suprimento sanguíneo por meio da *veia porta*, foi desenvolvida uma terapia minimamente invasiva para tratamento de câncer de fígado secundário: microesferas radioativas de ^{90}Y ($^{90}\text{Y-RE}$), em uma faixa estreita de tamanho, são administradas por meio de um microcateter na artéria hepática, sendo transportadas

preferencialmente para as arteríolas distais dentro e ao redor dos tumores, de modo a promover dois efeitos que combatem o desenvolvimento destes tumores: a embolização destas finas artérias, interrompendo o fluxo sanguíneo às células cancerígenas simultaneamente com a emissão de radiação β de alta energia, induzindo a morte destas células. Por se concentrar nos vasos intratumorais ou ao seu redor, a radiação não atinge o tecido saudável do fígado. [4]

Os resultados clínicos desta forma de terapia com radiação interna vêm se mostrando bastante promissores, sendo que comercialmente estão disponíveis dois tipos de microesferas contendo ^{90}Y , aprovadas pelas agências reguladoras americana e europeia: as de vidro (TheraSphere[®] produzida pela MDS Nordion Inc.) e as de resina (SIR-Spheres[®], produzida pela SIRTEx Medical Ltd.). [5]

As propriedades necessárias para que as microesferas possam ser utilizadas em terapia com radionuclídeos incluem:

- alta estabilidade mecânica para que suporte o transporte pelos capilares sanguíneos,
- alta estabilidade química para resistir à eluição de elementos radioativos, e para não sofrer radiólise,
- distribuição estreita e adequada de tamanho (de 20 a 60 μm) para se alojar nas arteríolas do tumor,
- densidade adequada para evitar sedimentação, e para que facilite a marcação com radionuclídeos,
- emissão de partículas beta de alta energia,
- meia-vida física intermediária (dias).

As microesferas contendo ^{90}Y apresentam como vantagens a emissão de radiação β de alta energia (energia máxima de 2,28 MeV), eficiente na destruição das células cancerígenas, com uma curta penetração nos tecidos moles (máximo de 11 mm), e uma meia-vida relativamente curta, de 64 horas, o que permite um maior controle e segurança para o procedimento, para o paciente e para as pessoas próximas ao

mesmo. No entanto o ^{90}Y emite apenas radiação β , o que é um limitador, pois caso emitisse também radiação γ , seria possível avaliar a biodistribuição das microesferas por meio de imagens, como por exemplo pela técnica de SPECT (Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único).^[6, 7]

Comparando-se os materiais com os quais são feitas as microesferas, tem-se que as de vidro se adéquam a diversas destas propriedades: apresentam alta resistência mecânica, estabilidade química, estreita distribuição de tamanho; no entanto apresentam alta densidade ($3,29 \text{ g/cm}^3$) e não são biodegradáveis. Já as microesferas de resina, que forneceram bons resultados iniciais, também não são biodegradáveis, apresentam limitada adsorção superficial e baixa capacidade de marcação. As microesferas confeccionadas a partir do polímero ácido polilático apresentam algumas importantes vantagens em relação aos outros materiais, em particular, a densidade muito próxima a do plasma sanguíneo, a biodegradabilidade e a biocompatibilidade.^[8,9]

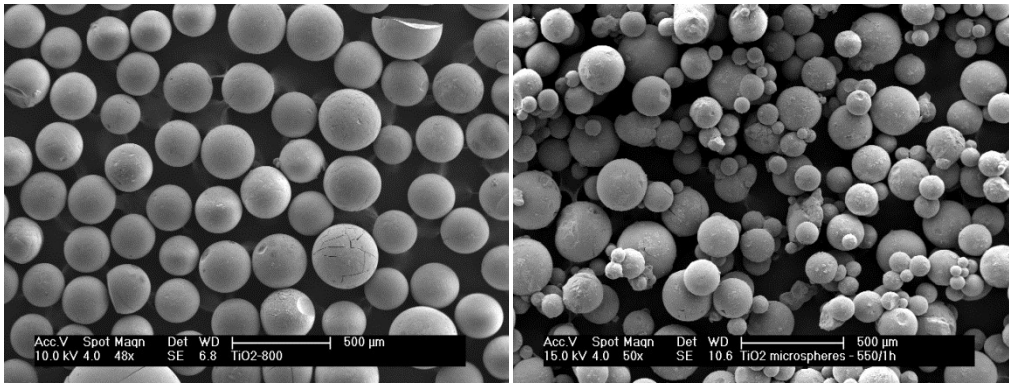
Novos estudos vêm sendo realizados visando a confecção de microesferas de sílica mesoporosa, que apresenta densidade menor que a do vidro (em torno de 2 g/cm^3), alta superfície específica, e portanto alta adsorção, o que permite a marcação com radionuclídeos, e biocompatibilidade.^[10]

No que se refere ao tipo de radionuclídeo empregado, observa-se que os isótopos ^{90}Y , ^{188}Re e ^{166}Ho apresentam características tais que os tornam potencialmente adequados para a terapia com radionuclídeos. Entretanto, como já dito acima, o ^{90}Y tem uma importante limitação de não produzir radiação γ , que permitiria avaliar a biodistribuição das microesferas por meio de imagens. O Rênio natural é composto de dois isótopos (^{185}Re e ^{187}Re) que, ativados por nêutrons, formam os radioisótopos ^{186}Re e ^{188}Re , emissores de partículas β , com propriedades nucleares e dosimétricas comparáveis às do ^{90}Y . No entanto também emitem radiação γ , o que permite o acompanhamento da terapia por imagens nucleares.

O ^{166}Ho é bastante atraente para a aplicação em radioembolização, já que, além da radiação β de alta energia, emite raios γ , permitindo o acompanhamento por imagens

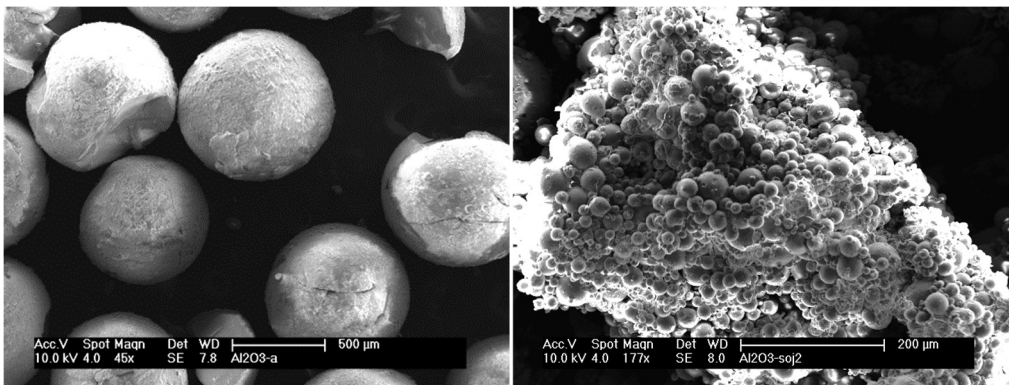
nucleares. A radiação β que emite tem uma energia menor que a emitida pelo ^{90}Y , o que reduz a dose recebida por tecidos saudáveis. Também é altamente paramagnético, podendo ser usado tanto para cintilografia (exames quantitativos) como para a Ressonância Magnética. Apresenta uma meia-vida adequada, de 26,9 horas, longa o suficiente para eliminar problemas logísticos e para fornecer uma alta taxa de dose de radiação. Sua seção transversal é comparável à do Rênio, mas o ^{165}Ho é o único isótopo natural e, assim, apenas um radioisótopo, ^{166}Ho , é formado pelo bombardeamento de nêutrons. Apresenta uma seção de choque de captura de nêutrons maior que a seção de choque do ^{90}Y , o que possibilita a produção de ^{166}Ho de alta atividade em reatores nucleares de pesquisa, como o IEA R1, o que faz com que o custo de produção de microesferas contendo ^{166}Ho seja menor que as com ^{90}Y . Dessa forma, o ^{166}Ho é um candidato bastante atraente a ser empregado na terapia de diversos tipos de câncer como o de medula óssea, de cérebro, fígado, rins, pulmões, etc.^[9] Alguns trabalhos com ^{166}Ho já foram desenvolvidos no IPEN visando a radioembolização de câncer de fígado, produzindo microesferas de vidro, de resinas e de PLLA, mas por diferentes motivos não tiveram continuidade.^[8, 12-13]

A produção de microesferas cerâmicas porosas pode se dar por diferentes métodos, sendo que cada qual, com suas especificidades irão interferir nas características do material produzido, como tamanho, porosidade, resistência mecânica, etc.. As técnicas de gelificação interna e externa já foram utilizadas no IPEN por diferentes grupos, sendo que atualmente nossa equipe vem produzindo microesferas de diferentes materiais como Al_2O_3 , TiO_2 , ZrO_2 , ferritas, dentre outros, e com diferentes faixas de tamanho: de 200 a 600 μm , por gotejamento normal, ou de 50 a 200 μm com a introdução do conceito de microfluídica. Além disso, estamos desenvolvendo microesferas de menor tamanho (entre 500 nm e 100 μm) pela técnica de emulsificação e precipitação hidrotérmica.^[14-15]



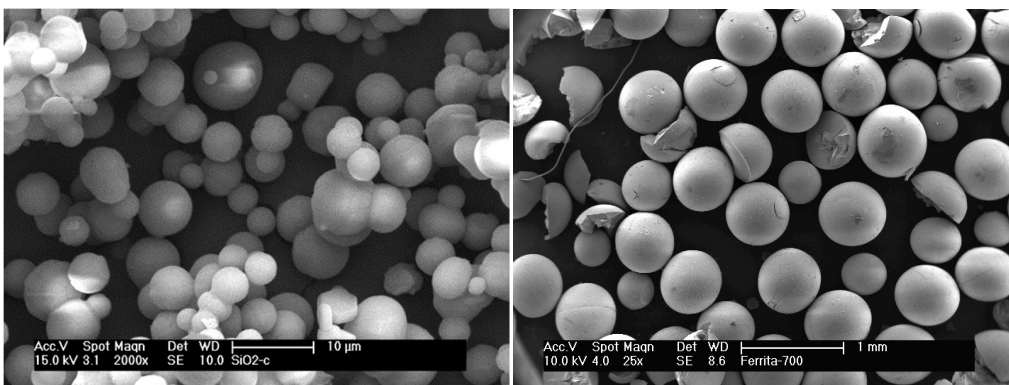
a)

b)



b)

d)



e)

f)

Figura 1: Exemplos de microesferas cerâmicas obtidas por diferentes técnicas: a) e b) TiO_2 , c) e d), Al_2O_3 , e) SiO_2 e f) ferrita

OBJETIVO

O principal objetivo deste trabalho é a produção de microesferas a base de Al_2O_3 e de SiO_2 , com a incorporação do radioisótopo ^{166}Ho ($^{166}\text{Ho-Al}_2\text{O}_3$ e $^{166}\text{Ho-SiO}_2$) em diferentes proporções, e com as características adequadas para que sejam utilizadas na terapia de tratamento de câncer de fígado por radioembolização. Para isso serão produzidas, por gelificação interna e por emulsificação, microesferas contendo ^{165}Ho , que serão irradiadas no Reator Nuclear IEA R-1, também sob condições a serem determinadas, de modo que tenha uma atividade suficiente para atender as necessidades para a terapia. Após a irradiação as microesferas serão caracterizadas em termos da atividade dosimétrica e no que se refere à fixação do ^{166}Ho na matriz cerâmica.

Centros do IPEN que participam da proposta *InterCentros*

Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais – CCTM

Luis Antonio Genova (responsável do CCTM e Coordenador do Projeto)

Centro de Radiofarmácia - CR

Jair Mengatti (responsável pelo CR)

Centro do Reator de Pesquisas – CRPq

Alberto De Jesus Fernando (responsável pelo CRPq)

METODOLOGIA A SER EMPREGADA

- produção de microesferas de alumina por gelificação interna:

A metodologia empregada nesta fase é descrita detalhadamente na literatura [14], sendo que em suma uma solução aquosa contendo um sal de alumínio (cloreto ou nitrato), ureia e hexametilenotetramina (HMTA) é gotejada em uma coluna contendo

uma fase imiscível (óleo de silicone ou óleo de soja) aquecida a 90 °C; após isso as microesferas obtidas são lavadas adequadamente e calcinadas. A variável a ser empregada nesta técnica será a utilização de dispositivos baseados na microflúidica [16, 17], que permitem um controle mais estreito do tamanho das gotas formadas e, portanto das microesferas obtidas no final. Além disso, serão incorporadas à solução, diferentes quantidades de cloreto de Ho. Alternativamente o Holmio poderá ser incorporado às microesferas por impregnação, mergulhando as mesmas em solução contendo o íon Ho, até se atingir o teor de Ho desejado.

- produção de microesferas de sílica utilizando-se dispositivos de microflúidica:

Microesferas de sílica serão produzidas com a utilização de dispositivos de microflúidica a serem confeccionados, baseando-se em diversos artigos recentes da literatura. De modo semelhante ao descrito acima, serão incorporadas à solução, diferentes quantidades de cloreto de Ho, podendo-se também, de modo alternativo, adicionar o Ho às microesferas por impregnação, mergulhando as mesmas em solução contendo o íon, por vezes suficientes até se atingir o teor de Ho desejado.

- produção de microesferas de alumina e de sílica por emulsificação: esta é uma técnica bastante descrita na literatura^[18], sendo que soluções ou suspensões contendo o íon de interesse (Si ou Al, neste caso) são vigorosamente misturadas a um líquido imiscível até que se tenha a emulsificação da mistura, com a conseqüente formação de microbolhas que originarão as microesferas finais. Vários fatores interferem no processo, mas a velocidade da mistura é um fator determinante do tamanho final das microesferas. Também por este método, o Ho será incorporado na solução ou suspensão que originará as microesferas, ou será incorporado por impregnação.

- Irradiação das microesferas:

As microesferas produzidas que se mostrarem aptas à etapa seguinte serão irradiadas no reator de pesquisas IEA R-1: para tanto serão desenvolvidas as configurações adequadas para os alvos, que serão irradiados em posições selecionadas dentro do reator, de modo a serem expostos a um fluxo adequado de nêutrons, e por um tempo também adequado, de modo a que o radioisótopo ^{166}Ho produzido, tenha uma atividade compatível para a aplicação a que se destina.

- Ensaios pós-irradiação

Neste projeto pretende-se avaliar as microesferas irradiadas em termos:

- da atividade específica do radioisótopo ^{166}Ho , pela contagem dos alvos irradiados em detector de Ge hiperpuro;
- da pureza dos radionuclídeos presentes, por meio de cintilador β ;
- da estabilidade química in vitro, mantendo-se as microesferas por até 200 horas imersas em fluido corporal simulado (solução SBF), a 37 °C, e pH 7, avaliando-se em diferentes intervalos de tempo a pureza radioquímica de alíquotas da solução.

PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS OU TECNOLÓGICAS DA PROPOSTA;

Pretende-se com este projeto avançar significativamente, tanto científica quanto tecnologicamente, para viabilizar a produção de microesferas cerâmicas contendo ^{166}Ho , que possam ser aplicadas na terapia de câncer de fígado por radioembolização. Pretende-se que este projeto seja uma etapa fundamental para que o IPEN venha a disponibilizar mais um produto estratégico ao mercado de medicina nuclear.

Além disso, como o radioisótopo ^{166}Ho apresenta um grande potencial de aplicação em outras terapias, o conhecimento e experiência acumulados deverão originar desdobramentos para o desenvolvimento de novas aplicações com este radioisótopo.

ORÇAMENTO PROPOSTO PARA O PROJETO

O orçamento proposto encontra-se em tabela anexa.

CRONOGRAMA FÍSICO

Atividades a serem desenvolvidas:

- 1- Produção e caracterização de microesferas de alumina contendo Holmio, com as características adequadas, por gelificação interna e microflúidica;**
- 2- Desenvolvimento dos dispositivos de microflúidica**
- 3- Produção e caracterização de microesferas de sílica, contendo Holmio, com as características adequadas, aplicando-se a microflúidica**
- 4- Produção e caracterização de microesferas de alumina contendo Holmio, por emulsificação**
- 5- Produção e caracterização de microesferas de sílica contendo Holmio, por emulsificação**
- 6- Estudos de irradiação das microesferas produzidas**
- 7- Caracterização química, física e dosimétrica das microesferas irradiadas.**
- 8- Relatório Final**

	TRIMESTRE							
Atividade	1	2	3	4	5	6	7	8
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								

PARTICIPANTES DA EQUIPE TÉCNICA DO PROJETO

Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais - CCTM

Luis Antonio Genova

Gabriel Lima de Oliveira (doutorando)

André Almeida Silva (Mestrando)

Diego Santiago Matos (Iniciação Científica)

Gabriel Paulino da Silva (Iniciação Científica)

Centro de Radiofarmácia - CR

Jair Mengatti

Luis Alberto Pereira Dias

Renato Artur Benvenuto

Centro do Reator de Pesquisas – CRPa

Alberto De Jesus Fernando

Tonicarlos Caboclo De Lima

Davilson Gomes Da Silva

DISPONIBILIDADE DE INFRAESTRUTURA E APOIO TÉCNICO;

Os Centros participantes dispõem de toda a infraestrutura e das condições técnicas para a realização do Projeto

PREVISÃO DE PRODUÇÃO DE C&T

Tem-se como meta:

1 publicação em Periódico Internacional

1 Pedido de Patente

2 participações em Congressos Nacionais

1 participação em Congresso Internacional

Resultado da pesquisa pode ser disponibilizado para o mercado/sociedade?

Nosso objetivo é que ao final deste projeto tenhamos condições de avançar em testes *in vivo das microesferas contendo* ¹⁶⁶Ho, como parte do desenvolvimento do produto final.

Referências bibliográficas.

- 1- A.G. Arranja, W.E. Hennink, A.G. Denkova, R.W.A. Hendriks, J.F.W. Nijsen, Radioactive Holmium Phosphate Microspheres for Cancer Treatment, *International Journal of Pharmaceutics* (2018), doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.036>
- 2- Mahnken, A. H.; Current status of transarterial radioembolization. *World J Radiol* (2016), 8(5): 449-459
- 3- Vente, M. A. D.; Zonnenberg, B. A.; Nijsen, J. F. W.; Microspheres for radioembolization of liver malignancies. *Expert Rev. Med. Devices* (2010) 7(5), 581–583
- 4- Braat, A. J.; Smits, M. L.; Braat, M. N.; et al; ⁹⁰Y Hepatic Radioembolization: An Update on Current Practice and Recent Developments. *J Nucl Med.* (2015) 56(7) 1079-87
- 5- Nijsen, J. F. W.; Krijger, G. C.; Schip, A. D.; The Bright Future of Radionuclides for Cancer Therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* (2007) 7 271-290
- 6- Yi Shi, Y., Johnsen, A. M.; Di Pasqua, A. J.; HOLMIUM FOR USE IN CANCER THERAPY. *Comments on Inorganic Chemistry*, (2017) 00: 1–20
- 7- Nimwegen, S. A.; Bakker, R. C., Kirpensteijn, J.; Es, R. J. J. et al; Intratumoral injection of radioactive holmium (¹⁶⁶Ho) microspheres for treatment of oral squamous cell carcinoma in cats. *Vet Comp Oncol.* (2017) 1–11
- 8- Costa, R. F.; Desenvolvimento de método de preparação de microesferas de polímero e resinas marcadas com Holmio-166. *Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo*, 2008
- 9- Nijsen, J. F. W.; Zonnenberg, B.A.; Woittiez, J.R.W.; Rook, D.W. et al; 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* (1999) 26:699–704
- 10- Di Pasqua, A. J.; Yuan, H.; Chung, Y.; et al; Neutron-Activatable Holmium-Containing Mesoporous Silica Nanoparticles as a Potential Radionuclide Therapeutic Agent for Ovarian Cancer. *J Nucl Med* (2013) 54 111–116

- 11- Smits, M. L. J.; Nijssen, J. F. W.; Bosch, M. A. A. J. et al.; Research Holmium-166 radioembolization for the treatment of patients with liver metastases: design of the phase I HEPAR trial. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* (2010) 29:70
- 12- Costa, R. F.; Azevedo, M. B. M.; Nascimento, N.; Sene, F. F.; Martinelli, J. R.; Osso, J. O.; PRODUCTION OF MICROSPHERES LABELED WITH HOLMIUM-166 FOR LIVER CANCER THERAPY: THE PRELIMINARY EXPERIENCE AT IPEN-CNEN/SP. 2009 International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2009
- 13- Barros F^o, E. C.; F.F.Sene, F. F.; Martinelli, J. R.; DESENVOLVIMENTO DE MICROESFERAS DE VIDROS FOSFATO CONTENDO HÓLMIO PARA APLICAÇÃO EM RADIOTERAPIA INTERNA SELETIVA. 20^o CBECIMAT (2012) Joinville, SC, Brasil
- 14- Christe, C. M., Efeitos de variáveis do processo de gelificação interna nas propriedades físicas e químicas de microesferas de alumina. Dissertação de Mestrado, USP, 2012
- 15- OLIVEIRA, G. L. ; ANDREOLI, M. ; GENOVA, L. A. . Porous TiO₂ microspheres synthesized by internal gelation method. In: 7th International Congress on Ceramics, 2018,
- 16- Ye, B.; Miao, J. L.; Li, J. L.; Zhao, Z. C.; Chang, C.; Serra, C. A.; Fabrication of size-controlled CeO₂ microparticles by a microfluidic sol–gel process as an analog preparation of ceramic nuclear fuel particles. *Journal of Nuclear Science and Technology* (2013) 50(8) 774–780
- 17- Kim, J.; Song, Y.; Lee, H.; Park, W.; Kim, H.; Kwon, S.; MICROFLUIDIC SYNTHESIS OF MAGNETOCHROMATIC MICROSPHERES UTILIZING MAGNETIC SELF-ASSEMBLY AND PHOTOPOLYMERIZATION PROCESS. 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (2010) Groningen, The Netherlands
- 18- Jesionowski, T.; Preparation of spherical silica in emulsion systems using the co-precipitation technique. *Materials Chemistry and Physics* (2009) 113 839–849