

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

Desenvolvimento de microesferas de vidro fosfato contendo hólmio para uso em radioterapia interna seletiva

ERALDO CORDEIRO BARROS FILHO

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências na área de Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Muccillo

São Paulo 2016

Dedico este trabalho às mulheres da minha vida: minha esposa Rose, minha mãe Darcy e minha irmã Isabel. Dedico também ao meu pai Eraldo Barros e ao grande mestre Prof. Dr. José Roberto Martinelli "in memoriam"

"Escolhe um trabalho de que gostes, e não terás que trabalhar nem um dia da tua vida". (Confúcio)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Roberto Martinelli pela orientação, dedicação, amizade e valiosos ensinamentos durante o desenvolvimento deste trabalho e de toda minha formação científica. Tentarei seguir seu exemplo por toda minha vida.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Muccillo pelo acolhimento em momento tão difícil, pela disponibilização dos laboratórios, por dar todo o suporte técnico para a finalização deste trabalho e também pelos valiosos ensinamentos na revisão do texto.

Ao Dr. Frank Ferrer Sene pelos grandes ensinamentos científicos e morais, colaboração e apoio durante toda a realização deste trabalho, em especial durante o período difícil que passamos após o falecimento do nosso grande mestre Prof. Dr. José Roberto Martinelli, auxílio na correção do texto e valiosa amizade.

Ao Dr. João Alberto Osso Jr. e Peterson Squair pelas irradiações de nêutrons e importantes esclarecimentos.

Ao grupo LAVICOM: Heveline Vieira, Carla Guimarães, Danilo, José Mario Prizon e em especial à Juliana Pereira que de muitos modos contribuíram para realização deste trabalho.

Aos técnicos, Flávia e Glaussom pelas análises de microscopia eletrônica de varredura e Yone pelo apoio nas compras dos reagentes e material de laboratório.

Ao técnico Renê Ramos de Oliveira pela análise de DRX.

À Dra. Olga Zazuco Higa pelas discussões e prestação de auxílio durante a realização dos testes de citotoxicidade.

À Profa. Dra. Eliana Muccillo pelas valiosas discussões e esclarecimentos.

Ao Dr. Hidetoshi Takiishi pela disponibilização dos laboratórios.

À CAPES pela bolsa de estudos e ao IPEN pela oportunidade para realização deste trabalho.

Ao Centro de Radiofarmácia do IPEN e à Agência Internacional de Energia Atômica pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Dr. Maurício Moralles pelas discussões durante o seminário de área.

À Magali pela atenção e dedicação nos assuntos burocráticos.

À minha família (tios, tias, primos e primas) e à todos que de alguma forma ajudaram-me no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos que conheci no IPEN e no Instituto de Física da USP que contribuíram com discussões importantes para o trabalho, em especial Railson, Lucas, Brunão, Felipão, Kopel, Carlinhos, Ricardo Araújo e Pedrão.

Aos meus amigos pela confiança e amizade: Rodrigo Bertolloto, Evandro Mantovani, Clélia, Manoela, Amanda Candida, Gisele Milani, Wilson, Marco Aurélio, Marcelo, Ana e todos aqueles que de uma maneira ou de outra sempre me deram força para continuar.

E à minha mãe, minha irmã e minha esposa pela paciência e por sempre acreditarem em mim.

Desenvolvimento de microesferas de vidro fosfato contendo hólmio para uso em radioterapia interna seletiva

Eraldo Cordeiro Barros Filho

Resumo

A radioterapia interna seletiva é uma alternativa para o tratamento de alguns tipos de cânceres como o carcinoma hepatocelular (CHC), ou câncer de fígado primário. Neste tratamento, microesferas de vidro ou polimérica contendo em sua estrutura radionuclídeos emissores de partículas β^{-} são introduzidas no fígado por meio da artéria hepática e migram, preferencialmente, para regiões hipervascularizadas, que são características da presença de tecido canceroso. Neste trabalho, foram propostos o desenvolvimento de vidros fosfato contendo hólmio para produção de microesferas e sua aplicação em radioterapia interna seletiva no Brasil. O vidro desenvolvido apresentou durabilidade química adequada, densidade de 2,7(3)g/cm³, alta estabilidade térmica e as impurezas encontradas não inviabilizam o tratamento. As microesferas foram produzidas pelos métodos da chama e da queda gravitacional e foram caracterizadas por diversas técnicas em que se observaram forma, granulometria, atividade e biocompatibilidade apropriados para o tratamento pretendido. Propõe-se que as microesferas possam ser submetidas a testes "in vivo".

Palavras-chave: microesferas, vidro fosfato, hólmio.

Development of phosphate glass microspheres containing holmium for selective internal radiotherapy

Eraldo Cordeiro Barros Filho

Abstract

The selective internal radiotherapy is an alternative for some kinds of cancer as the hepatocellular carcinoma (HCC) or primary liver cancer treatment. In this treatment, glass or polymer microspheres containing radionuclides inside their structure are introduced in the liver through hepatic artery and trapped at the arterioles that feed the tumor. In this work, the development of phosphate glasses containing holmium for production of microspheres and their application in Brazil are proposed. The developed glasses presented suitable chemical durability, density of 2,7(3) g/cm³, high thermal stability and the impurities contained therein do not preclude the treatment. The microspheres were produced by the flame method and the gravitational fall method, and were characterized by means of several techniques to evaluate shape, average particle size, activity and biocompatibility suitable for selective internal radiotherapy. Based in the main results, the submission to "in vivo" tests is proposed.

Keywords: microspheres, phosphate glass, holmium

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO		
1.1 Carcinoma hepatocelular (CHC)10		
1.2 Radioterapia interna seletiva		
1.2.1 Aspectos históricos		
1.2.2 Método13		
1.2.3 Aplicação16		
1.2.4 Hólmio		
1.3 Vidros		
1.3.1 Teorias de transição vítrea22		
1.3.1.1Transições de fases termodinâmicas		
1.3.1.2Processos de relaxação		
1.3.1.3 Volume livre		
1.3.2Formação vítrea		
1.3.2.1Teorias de formação estrutural		
1.3.2.2Teorias de formação cinética		
1.3.3 Vidros fosfatos		
1.3.4 Durabilidade química de vidros		
1.4 Microesferas radioativas		
1.4.1 Atividade		
1.4.2 Decaimento β^{-}		
1.4.3 Seção de choque para absorção de nêutrons		
1.4.4 Ativação		
2. OBJETIVOS		

3. MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1 Materiais	40
3.1.1 Vidros fosfatos contendo hólmio em substituição ao lantânio e	
previamente produzidos pelo IPEN	40
3.1.2 Incorporação do óxido de hólmio	42
3.2 Métodos	43
3.2.1 Síntese	43
3.2.2 Caracterização dos vidros	45

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Composições avaliadas	49
4.2 Espectrometria de fluorescência de raios X	51
4.3 Picnometria a gás He	52
4.4 Calorimetria exploratória diferencial	53
4.5 Microscopia eletrônica de varredura	55
4.6 Difração de raios X	58
4.7 Análise da durabilidade química	61
4.8 Testes de citotoxicidade dos vidros fosfatos	66
4.9 Incorporação do óxido de hólmio	67
4.10 Análise granulométrica	75
4.11 Avaliação dos danos superficiais após irradiação por nêutrons	76
4.12 Teste de citotoxicidade das composições MVP ₄ HoC ₁ e MVP ₅ HoC	178

5.	CONCLUSÃO7	'9

80
8

1. INTRODUÇÃO

1.1 Carcinoma hepatocelular (CHC)

O carcinoma hepatocelular (CHC), ou câncer de fígado primário, é a terceira causa mais comum de morte por câncer no mundo, com estimativas de mais de 500.000 novos casos por ano, e este índice têm aumentado em alguns países [1]. A ocorrência em homens é muito superior à ocorrência em mulheres, com uma razão de 8:1. Este fato é observado principalmente em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, como ocorre em alguns países da África e da Ásia. De cada dez pessoas que desenvolvem o CHC, oito encontram-se nestas regiões [2].

Apesar da grande incidência de tumores primários, muitas vezes ocorre metástase hepática originária do carcinoma desenvolvido em outros órgãos, como o colo retal, com incidência de um milhão de novos casos anuais. O diagnóstico do CHC é predominantemente tardio, o que permite o crescimento do tumor por toda extensão do fígado e ocasiona a morte da maioria dos pacientes dentro de um prazo de um ano, a partir do aparecimento dos primeiros sintomas.

O CHC é um tumor epitelial derivado dos hepatócitos, altamente vascularizado e seu parênquima é formado por células neoplásicas arranjadas em um padrão trabecular (filas de células que atravessam uma cavidade) e, por isso, sua consistência é mole. A estrutura macroscópica do CHC é classificada em função da sua forma, tamanho e padrão de crescimento [3]. O fígado é um órgão massivo e complexo, com várias funções biológicas. O conhecimento da anatomia desse órgão e a compreensão dos seus mecanismos fisiológicos e metabólicos permitem entender os impactos causados pelo CHC nos sistemas cardiovascular, pulmonar e nas funções renais [2].

O CHC alastra-se extensamente dentro do fígado por crescimento celular contíguo e pelo desenvolvimento de nódulos satélites. O aparecimento desta doença está ligado a vários fatores como infecções por vírus da hepatite B ou C, cirrose, exposição à aflatoxinas (AFB1), transtornos metabólicos hereditários, consumo excessivo de álcool, entre outros [1].

O controle dos fatores de risco tem resultado em um recente declínio do aparecimento do CHC em países como Taiwan e China. No entanto, na América do Norte e Europa, a incidência tem aumentado, principalmente pelas mudanças de hábitos de vida dos norte-americanos e europeus [2].

No Brasil, apesar de ser pouco frequente, o CHC tem morbi-mortalidade considerada alta e gera custos elevados ao Sistema Único de Saúde (SUS) [3].

O tratamento do CHC é um desafio terapêutico, pois o único procedimento efetivamente curativo é o ressecamento cirúrgico, podendo ser parcial ou total, seguido de transplante, que dependerá da localização e tamanho do tumor, idade do paciente, grau de cirrose, entre outros.

O diagnóstico do CHC é geralmente realizado de forma tardia, em função do desenvolvimento do tumor e dos nódulos ser lento e assintomático. Este fato permite que apenas 10 a 15% dos pacientes sejam eletivos para procedimentos cirúrgicos ou transplante [2, 4], enquanto que apenas 7% dos demais superam os cinco anos de sobrevida [5].

Novas opções de terapia são necessárias para pacientes inoperáveis e muitas delas têm auxiliado a salvar vidas, reduzindo a morbi-mortalidade, por meio da redução da massa tumoral, ainda que nenhuma delas, por si só, consiga a erradicação total do tecido tumoral maligno. Como exemplo, pode-se citar a radioterapia externa, a quimioterapia sistêmica, a hipertermia e a imunoterapia. Porém, estas modalidades de tratamento, usualmente, causam efeitos colaterais, que reduzem a qualidade de vida do paciente. Como resultado, há a necessidade de novos tratamentos que ofereçam uma diminuição dos indesejados efeitos colaterais.

Uma terapia alternativa indicada para casos avançados da doença, em que não é possível o emprego do procedimento cirúrgico, é a radioterapia interna seletiva ou radioembolização. Esta terapia utiliza microesferas pré-selecionadas, com diâmetro entre 20 μ m e 70 μ m, contendo radionuclídeos emissores de partículas β^{-} , produzidos em um reator nuclear por bombardeamento de um feixe de nêutrons. As microesferas contendo radionuclídeos são introduzidas no fígado por meio de um cateter acoplado à artéria hepática.

Estas microesferas migram para o fígado, acumulam-se e apresam-se em sua maioria nos pequenos vasos sanguíneos e arteríolas (que possuem calibres na mesma faixa granulométrica das microesferas) que alimentam o tumor. A emissão de partículas β^{-} , depositando altas doses diretamente no tumor, impede o crescimento do mesmo,

causando a aniquilação das células cancerosas [6]. Esta terapia, quando utiliza microesferas de vidro, é caracterizada por ser minimamente embólica, permitindo o uso conjugado de outros tratamentos como a quimioterapia sistêmica [7]. Esta possiblidade de combinar terapias não é possível quando são utilizadas microesferas poliméricas, que são predominantemente embólicas.

A radioterapia interna seletiva já é utilizada em alguns países. Microesferas de vidro são disponíveis comercialmente pela MDS Nordion, Canadá (Theraspheres®), assim como microesferas poliméricas pela Sirtex Medical Ltd., Austrália (SIR-Sphere®). Ambas utilizam o radionuclídeo 90 Y (90 Y: $E_{\beta máx}$ =2,28 MeV; t $_{1/2}$ =64,1 h; σ = 1,25 barn) como exclusivo emissor β^- , possuindo um alcance médio de 2,5 mm e máximo de 11 mm no tecido humano. O 90 Y após emissão β decai em 90 Zr estável. Essa terapia possui um relativo sucesso [8, 9], porém o uso de radionuclídeos alternativos está sendo investigado em substituição ao 90 Y, como 32 P, 188 Re , 131 I, e em especial o ¹⁶⁶Ho (¹⁶⁶Ho: $E_{\beta max}$ =1,85 MeV; $E\gamma$ =81 keV (6,4%); t _{1/2} = 26,8 h; σ = 64 barn), produzido por meio da reação nuclear ¹⁶⁵Ho (n,γ) ¹⁶⁶Ho, cuja emissão β^{-} tem um alcance máximo de 8,5 mm no tecido humano, energia apropriada para aniquilação de células cancerosas, meia-vida radioativa relativamente curta e decai em ¹⁶⁶Er estável [10, 11]. O ¹⁶⁵Ho tem alta seção de choque para absorção de nêutrons, possibilitando a ativação em reatores de baixa potência e baixo fluxo de nêutrons térmicos, como no caso do reator nuclear do IPEN, IEA-R1. O ¹⁶⁶Ho é um emissor de partículas β^{-} e raios γ , sendo, por isso, apropriado à produção de imagens por tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT - Single Photon Emission Computed Tomography), além de ser altamente paramagnético, podendo ser utilizado como agente de contraste, pois altera os tempos de relaxação T1 e/ou T2 dos prótons, alterando a intensidade do sinal captado por bobinas da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) indiretamente e possibilitando a produção de imagens por RMN [12]. Estas modalidades de imageamento são úteis para a avaliação da biodistribuição das microesferas e permitem estimativas da dosimetria por meio de análises quantitativas de SPECT, cintilografia e imagens de RMN [13].

A investigação de vidros fosfato para uso em radioterapia interna seletiva foi previamente realizada, utilizando o radioisótopo ³²P como emissor β^{-} puro [14]. No entanto, a baixa seção de choque para absorção de nêutrons do ³¹P impediu a implementação deste material. Visto que estes tipos de vidro são bons hospedeiros de íons de terras-raras, optou-se por uma proposta inovadora: a obtenção de vidros fosfato contendo hólmio em sua estrutura e com considerável durabilidade química para a aplicação pretendida. Além disso, a preparação de vidros fosfato requer temperaturas mais baixas do que as utilizadas na produção de vidros aluminossilicato, o que os torna mais atrativos economicamente e minimiza possíveis contaminações. Outra vantagem é que o fósforo pode ser utilizado para obtenção de imagens por RMN.

1.2 Radioterapia Interna Seletiva

1.2.1 – Aspectos Históricos

A radioterapia interna seletiva foi inicialmente desenvolvida nos anos 60 do século XX [15], quando foi reportada a aplicação com sucesso de microesferas cerâmicas dopadas com ítrio (⁹⁰Y) em coelhos, em que se observou a inibição do crescimento tumoral. Em 1969 foram reportados os primeiros resultados usando microesferas metálicas dopadas com ítrio no tratamento de humanos [16, 17]. Apesar do estudo limitado a dois pacientes portadores de CHC, os resultados foram favoráveis à diminuição da massa do tumor. Durante os anos 80 do século passado, muitos trabalhos foram publicados sobre este tratamento, em que foi possível estabelecer as condições adequadas para a efetiva aplicação com segurança, garantindo a deposição de dose no tecido lesado e preservando o tecido sadio. Trabalhos reportados previamente mostraram que os pacientes mais indicados para este tipo de tratamento eram aqueles que possuíam tumores hipervascularizados [16, 18]. Estes resultados ajudaram a criar um critério de seleção para pacientes submetidos a esta terapia. Microesferas comerciais usam como radionuclídeo o ⁹⁰Y e estas terapias possuem um relativo sucesso, propiciando uma melhora na qualidade de vida dos pacientes e, em muitos casos, tornando-os operáveis para remoção completa do tumor.

1.2.2 – Método

A irradiação intra-arterial ou radioterapia interna seletiva é um efetivo modo de tratamento de alguns tipos de câncer por meio da injeção de material radioativo diretamente na artéria nutriente do tumor ou órgão lesionado [19]. O carcinoma hepatocelular é um tipo de câncer que pode ser tratado com esta terapia, principalmente para aqueles pacientes não indicados para o procedimento cirúrgico, quando os sintomas já estão presentes e boa parte do fígado comprometida. Este fato ocorre devido ao tecido sadio do fígado nutrir-se, predominantemente, pela veia porta hepática, enquanto o tumor é nutrido especialmente pela artéria hepática (80-100% do sangue recebido no tumor provêm da artéria hepática). Portanto, faz-se a administração do medicamento diretamente na artéria hepática, na qual as microesferas migram até regiões hipervascularizadas, típicas do tecido canceroso. Como a distribuição do fluxo sanguíneo é de 3 a 7 vezes maior no tumor do que nos tecidos sadios circundantes, haverá uma tendência de deposição das microesferas nas arteríolas que alimentam o tumor, sendo que somente 8-10% das microesferas são levadas a regiões sadias. As microesferas se apresam nas arteríolas que alimentam o tumor e depositam altas doses localizadas aniquilando as células cancerosas como mostrado na FIG. 1.





O material injetado deve possuir formato esferoidal para evitar arestas cortantes, que poderiam causar hemorragias, diâmetro entre 20 e 70 μ m para a efetiva retenção na região do tumor e deposição de dose na área lesionada, e densidade não superior a 3,5 g/cm³ para que não haja deposição das microesferas, por efeito gravitacional, nos vasos sanguíneos antes do efetivo direcionamento ao tecido lesado.

Partículas menores que 20 µm devem ser evitadas, devido à possibilidade de ocorrer à migração dessas partículas pela corrente sanguínea até regiões de órgãos sadios (extra-hepático). Partículas maiores que 70 µm poderiam ser apresadas antes da chegada até as arteríolas que alimentam o tumor e também devem ser evitadas. A escolha da matriz vítrea e do radionuclídeo utilizado para deposição de dose depende

das propriedades específicas de cada componente. Os elementos constituintes da matriz vítrea devem possuir: baixa seção de choque para absorção de nêutrons a fim de que não sejam gerados radionuclídeos indesejáveis e a matriz vítrea deve possuir durabilidade química adequada para que não haja desprendimento do radionuclídeo para a corrente sanguínea, e este deve possuir meia vida adequada (curta o suficiente para decair após a conclusão da terapia e longa o suficiente para a realização da logística de transporte do centro de irradiação até o hospital onde o procedimento será efetuado) [5, 6]. A matriz vítrea escolhida pelos primeiros pesquisadores que desenvolveram esta técnica foi um vidro aluminossilicato, pois este possui uma alta durabilidade química, não é citotóxico e os elementos alumínio, silício e oxigênio possuem baixa seção de choque para captura de nêutrons. Vários radionuclídeos foram avaliados tais como ¹³¹I e ¹⁸⁸Re, porém determinou-se que o mais adequado era o ⁹⁰Y, pois concentrava várias propriedades apropriadas, como meia-vida de 64 h e 6 min, viabilizando a logística para produção, transporte e entrega requerida, seção de choque para absorção de nêutrons de 1,25 barn, o que garante a produção do radionuclídeo para o tratamento e emissor β puro de energia máxima maior que 1 MeV ($E_{máx\beta} = 2,28$ MeV), que é requerido para o aniquilamento das células cancerosas.

No entanto, neste tratamento um teste é necessário para a implementação do método: o teste do "desvio para o pulmão" (lung shunt). Este teste é realizado por meio de um exame cintilográfico em que são inseridas partículas de um macroagregado de albumina marcado com tecnécio metaestável (99m Tc), que é um emissor gama puro de energia considerada baixa (E $\gamma = 140$ keV), via artéria hepática, uma semana antes da aplicação das microesferas, para determinação da real localização e tamanho da massa tumoral, avaliação da biodistribuição da dose terapêutica a ser depositada e se o paciente possui uma predisposição para que as microesferas sejam desviadas para o pulmão e trato gastrointestinal, causando complicações como embolia, úlceras e inflamações. [20, 21]. Caso a fração do macroagregado desviado para o pulmão ou trato gastroinstestinal seja maior que 20%, o procedimento de radioembolização deve ser evitado.

Ainda que se consiga segurança na aplicação do tratamento, quando é feita a definição dos pacientes, assumir que o macroagregado de albumina marcado com tecnécio será um simulador perfeito das microesferas para o teste de "desvio para o pulmão" não é uma afirmação justificada, pois, obviamente, muitas propriedades destas substâncias são diferentes das apresentadas pelas microesferas efetivamente aplicadas,

tais como densidade, forma, tamanho e número de partículas, o que expõe este teste a resultados discutíveis [13, 31].

Há outra alternativa para o teste de "lung shunt" sem o uso do macroagregado de albumina marcado com tecnécio, que é o uso em baixo teor das próprias microesferas contendo ítrio para fins de diagnóstico e, através da radiação de bremsstrahlung dos elétrons emitidos via emissão β^2 , é realizada toda a checagem para posterior procedimento da terapia pretendida. Porém, este tipo de teste é caro e pouco eficaz, pois o mapeamento das microesferas é prejudicado pelo baixo sinal gerado nos detectores, vindos da radiação de bremsstrahlung, gerando imagens com baixa definição e resolução [22-24].

O uso do ⁹⁰Y como radionuclídeo requer várias semanas de ativação neutrônica das microesferas antes do tratamento devido à baixa seção de choque para a captura de nêutrons, quando comparado a outros elementos, e isto encarece este tipo de terapia. Desse modo, apesar das várias características e propriedades adequadas e factíveis para radioembolização, é possível perceber que elas não são ideais para o tratamento e podem ser consideradas como limitações do uso do ⁹⁰Y como radionuclídeo, quando comparadas a outros elementos promissores [25]. Um radionuclídeo que possui vantagens em relação ao ⁹⁰Y é o ¹⁶⁶Ho, que é altamente paramagnético, possuindo um momento de dipolo magnético de 10,6 μ_B (magnéton de Bohr) por átomo, e por isso propiciando imagens por ressonância magnética nuclear. Ele também é emissor gama de baixa energia (E $\gamma = 81$ keV), permitindo a obtenção de imagens por tomografia computadorizada por emissão de fóton único, além de seu isótopo ¹⁶⁵Ho ter alta seção de choque para captura de nêutrons, comparada ao ⁸⁹Y.

1.2.3 – Aplicação

Os pacientes devem ser selecionados por meio de exames clínicos para a aplicação do procedimento radioterapêutico. O tratamento é indicado para aqueles que possuem estágio avançado da doença, impossibilitando o procedimento cirúrgico e que apresentem compatibilidade com os pré-requisitos da radioterapia interna seletiva como: grau de "lung shunt" inferior a 20%, ausência de reações trombogênicas danosas e trombose na veia porta hepática, após infusão das microesferas antes da chegada ao tumor, localização do tumor no fígado em região onde seja factível o tratamento,

número de nódulos satélites não superior a 5, não apresentar metástases extra-hepáticas generalizadas e adequado funcionamento do fígado [1].

As microesferas poliméricas utilizando 90 Y são produzidas e comercializadas pela empresa Sirtex (http://www.sirtex.com/au/) e são nãobiodegradáveis, possuem densidade próxima do plasma sanguíneo e diâmetro médio de 35 µm, enquanto as microesferas vítreas contendo 90 Y são produzidas e comercializadas pela empresa MDS Nordion (http://www.nordion.com/), apresentam alta durabilidade química e diâmetro médio de 40 µm.

Um volume de 5 mL de microesferas em solução salina é inserido na artéria hepática contendo cerca de 50 milhões de microesferas poliméricas para uma atividade administrada entre 1 e 2,5 GBq para pacientes possuindo tumores metastáticos e aproximadamente 4,5 GBq para pacientes possuidores de CHC. No caso das microesferas vítreas, 4 milhões de microesferas são capazes de proporcionar uma atividade administrada de aproximadamente 10 GBq [26].

O procedimento é considerado minimamente invasivo e não requer hospitalização prolongada (24-48 h). Após dez meias vidas do isótopo, a atividade do radionuclídeo será reduzida para valores desprezíveis e a duração de um procedimento, incluindo os exames cintilográficos e aplicação do radiofármaco, é de 6 semanas.

Após um conjunto de exames clínicos, o médico decidirá quantos procedimentos serão necessários para a redução do tumor.

As microesferas apresadas nas arteríolas que alimentam o tumor permanecem permanentemente no local até que seja possível o procedimento cirúrgico, sendo retiradas junto com o tumor ou ficam imobilizadas na região. É possível que apareçam efeitos colaterais após a aplicação, como dor abdominal, náusea, vômitos, febre, fadiga e sintomas similares ao resfriado ou gripe, que geralmente desaparecem após 48 h. A perda de funcionalidade do fígado em casos raros pode ocorrer e levar o paciente a óbito e, por isso, exames de acompanhamento devem ser realizados para monitoração do funcionamento do fígado.

A radioterapia interna seletiva usando microesferas vítreas contendo ítrio é aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) desde 1999 e utilizando microesferas poliméricas, desde 2002 [26], e há vários trabalhos mostrando sua eficácia e segurança, apesar das limitações. Pode-se citar [7] em que é feita uma revisão sobre os casos tratados utilizando esta terapia com microesferas vítreas e conclui-se que apesar do tratamento não ser curativo, ele proporciona, em geral, uma diminuição do tumor. A

doença continua progredindo em pouquíssimos casos analisados. Foi feita uma revisão com diversos casos tratados com microesferas vítreas, na qual foi concluído que o tratamento no combate a doenças cancerosas do fígado com microesferas contendo ítrio é seguro e efetivo na redução do tumor [27]. Foram discutidas as dificuldades na implementação da radioembolização usando as microesferas vítreas (Theraspheres) e foi concluído que, apesar das dificuldades encontradas, o tratamento é satisfatório e mais efetivo, comparado a outros tratamentos paliativos [8].

1.2.4 – Hólmio

Um radionuclídeo que apresenta várias vantagens sobre o ⁹⁰Y para aplicação em radioterapia interna seletiva é o ¹⁶⁶Ho. O isótopo ¹⁶⁵Ho utilizado para produção do radionuclídeo possui alta seção de choque para absorção de nêutrons (64 barn), permitindo a ativação e reduzindo o tempo de ativação, mesmo em reatores de baixa potência e baixo fluxo de nêutrons, como o caso do reator do IPEN. O ¹⁶⁶Ho é um radionuclídeo emissor gama de baixa energia (81 keV) e intensidade (6,4%), possibilitando a obtenção de imagens por tomografia computadorizada por emissão de fóton único (uma quantidade bastante reduzida de microesferas poderia ser introduzida no paciente para realização do teste de "lung shunt") e é altamente paramagnético, propiciando a obtenção de imagens por ressonância magnética nuclear [28-29].

A ressonância magnética nuclear realizada a partir da inserção de microesferas traria outra vantagem: o teste do "lung shunt" poderia ser realizado sem a necessidade da ativação. As microesferas não radioativas seriam inseridas em baixa concentração para propósitos de estimativas dosimétricas e de avaliação da biodistribuição e, após estes exames, o tratamento terapêutico seria implementado. Deste modo, o paciente e o médico não seriam expostos à radiação ionizante, minimizando os riscos e danos inerentes.

Microesferas poliméricas contendo hólmio foram obtidas e resultados promissores foram publicados [12, 13, 30, 31]. Tudo indica que o tratamento é seguro e factível para pacientes no qual a cirurgia não é indicada, e as imagens geradas pelo uso das microesferas são bastante satisfatórias, ainda que outros testes precisem ser realizados [32].

Dentro dessas possibilidades, pode-se afirmar que as microesferas vítreas apresentam vantagens em relação às poliméricas, tais como uma durabilidade química

superior, simplicidade do processo de produção e maior estabilidade mecânica e química em relação à radiólise. O desenvolvimento de microesferas de vidro fosfato contendo hólmio poderá ser uma inovação que permitirá a aplicação deste tratamento com menor custo, podendo salvar muitas vidas.

1.3 Vidros

Uma definição operacional de vidros proposta pela American Society for Testing Materials (ASTM) é: "Um vidro é um sólido inorgânico, obtido pelo resfriamento rápido de um líquido sem ocorrência de cristalização" [33], porém essa definição é restritiva, pois pode-se obter vidros orgânicos e metálicos e também o processo de resfriamento rápido não é o único meio de obtenção de vidros. Os processos de sol-gel, deposição de vapor e irradiação com nêutrons em materiais cristalinos também são eficientes para obtenção de vidros [34]. Os vidros são materiais frágeis, duros e podem ser transparentes à luz visível, porém o notável é que todos os vidros produzidos naturalmente ou artificialmente apresentam duas características comuns: ausência de um arranjo atômico periódico de longo alcance e exibição de um comportamento dependente do tempo conhecido como comportamento de transição vítrea. Em 1997, Shelby definiu vidros como sólidos amorfos, com ausência completa de ordem a longo alcance e periodicidade, exibindo uma região de transição vítrea. Qualquer material, inorgânico ou orgânico, formado por qualquer técnica, que exibe um fenômeno de transição vítrea é um vidro [34].

O comportamento de transição vítrea é investigado com base no diagrama do volume específico ou de alguma grandeza termodinâmica extensiva em função da temperatura. A FIG. 2 mostra o volume específico como grandeza termodinâmica extensiva em função da temperatura.



FIGURA 2: Volume específico em função da temperatura de vidro e de um cristal [35]

Considerando o gráfico da FIG. 2 a partir do ponto A, tem-se um líquido em equilíbrio. Durante o resfriamento do líquido, um de dois eventos pode ocorrer: se a taxa de resfriamento for baixa o suficiente, o volume específico diminui continuamente de acordo com seu coeficiente de expansão térmica até o ponto B na temperatura T_f, quando passa a apresentar uma redução drástica do volume, caracterizado por uma descontinuidade do gráfico da FIG. 2 e atinge o ponto C. A temperatura T_f, da direita para esquerda é a temperatura de solidificação e ocorrerá formação de núcleos e subsequentemente crescimento de cristais. Diz-se que houve a cristalização do material, no qual seus átomos formaram uma rede periódica cristalina tridimensional e assim se explica a diminuição abrupta do volume específico. Continuando o resfriamento, seguese o percurso até o ponto D e tem-se um sólido cristalino. No entanto, outro evento pode ocorrer se o resfriamento for rápido o suficiente a partir do ponto A: o volume específico pode diminuir sem que ocorra descontinuidade na curva da FIG. 2 e o líquido é denominado líquido metaestável. Continuando o resfriamento e seguindo o segmento BE, a curva começa a desviar-se da linha de equilíbrio até o ponto E, diminuindo seu coeficiente angular continuamente, até atingir o mesmo valor do coeficiente angular da reta CD sem que haja cristalização. O sólido amorfo assume seu estado final até F e é denominado vidro. Fisicamente, o que ocorre pode ser explicado da seguinte maneira: durante o resfriamento rápido, o movimento translacional dos átomos no líquido continua na medida em que a temperatura diminui, mas sem que ocorra o rearranjo periódico da estrutura e a redução abrupta do volume específico. A viscosidade deste líquido começa a aumentar e os átomos começam a perder mobilidade translacional, até que o valor da viscosidade torna-se tão alto que as posições atômicas tornam se fixas e os átomos perdem sua mobilidade translacional. Os limites de temperatura em que a curva da FIG. 2 começa a desviar-se da linha de equilíbrio até atingir o líquido "congelado" determinam a região de transição vítrea [34, 36-40].

Os valores dos parâmetros que controlam a mudança de inclinação da curva da FIG. 2 são considerados relacionados à cinética, como a taxa de resfriamento, que influenciará o aumento da viscosidade do líquido metaestável e, portanto, a região de transição vítrea dependerá da história térmica da produção do vidro [34]. Desse modo, a região de transição vítrea não é bem definida, pois depende da história térmica do vidro e é conveniente definir uma temperatura que permita diferenciar dois vidros com diferentes taxas de resfriamentos. Essa temperatura denominada temperatura *fictícia* é definida como a intersecção entre a linha extrapolada do líquido metaestável e a do vidro. Apesar do conceito de temperatura fictícia não ser completamente satisfatório para caracterizar a história térmica de um vidro, é um conceito bastante útil para discutir os efeitos da mudança de taxa de resfriamento nas propriedades e estruturas dos vidros [34].

É conveniente definir uma única temperatura que caracterize a região de transição vítrea. Essa temperatura é denominada temperatura de transição vítrea (T_g) e pode ser determinada pela mudança da linha base de uma curva de análise térmica, indicando que houve uma mudança no calor específico e sugerindo uma transição de fase de segunda ordem, conforme a classificação de Ehrenfest [37]. Também pode ser determinada pela mudança de inclinação na curva dilatométrica, como mostrado na FIG. 3.



FIGURA 3: Tg determinada pelos métodos de: a) análise térmica diferencial (DTA); b) Dilatometria [41].

Os valores obtidos pelos dois métodos são similares, mas não idênticos e, portanto, a T_g depende do método experimental utilizado para sua determinação e

também da taxa de aquecimento usada durante a medida e, desse modo, não pode ser considerada uma propriedade intrínseca do vidro [34]. Pode-se interpretar a T_g como um indicador útil da temperatura aproximada, em que o líquido super-resfriado (metaestável) converte-se em um sólido amorfo ou de outra maneira, durante o aquecimento, o sólido começa a apresentar um comportamento viscoelástico [37].

1.3.1 Teorias para transição vítrea.

A natureza da transição vítrea é bastante complexa e ainda pouco compreendida. Algumas teorias tentam explicá-la, porém nenhuma delas o faz de maneira completa e desse modo é necessário fazer uso de várias teorias para explicar diferentes aspectos dos fenômenos relacionados à transição vítrea [37].

1.3.1.1 Transições de fases termodinâmicas

É aceito pela comunidade científica que existe uma transição denominada vítrea, envolvendo modificações de diversas propriedades quando um sólido nãocristalino, comumente denominado amorfo, passa para a fase líquida [37]. Essa transição se reflete macroscopicamente por meio de mudanças em várias propriedades termodinâmicas, como calor específico, coeficiente de expansão térmica e coeficiente de compressibilidade. O fato de certas variáveis termodinâmicas, como volume, entropia e entalpia, serem contínuas durante a transição vítrea, enquanto calor específico, coeficiente de expansão térmica e coeficiente de acompressibilidade não o são, sugere que o fenômeno de transição vítrea poderia estar associado com uma transição de fase de segunda ordem, de acordo com a classificação de Ehrenfest [37]. Nessa classificação, se um sistema estiver com suas fases em equilíbrio termodinâmico sob temperatura constante, os potenciais químicos ou energia livre de Gibbs das duas fases são iguais. Supondo que as fases ψ e χ estão em equilíbrio, deve-se ter:

$$G^{\psi} = G^{\chi} \tag{1}$$

em que G é a energia livre de Gibbs definida como G(H,S,T) = H - TS (2)

A derivada primeira da energia livre de Gibbs em relação à temperatura e à pressão definem a entalpia H, a entropia S, e o volume V:

$$\left[\frac{\partial (G/T)}{\partial (1/T)}\right]_{P} = H \qquad \qquad \left[\frac{\partial G}{\partial T}\right]_{P} = -S \qquad \qquad \left[\frac{\partial G}{\partial P}\right]_{T} = V \qquad (3)$$

Se as derivadas primeiras da energia livre de Gibbs com relação à temperatura, ou à pressão, forem funções descontínuas na temperatura de transição de fase, diz-se que esta transição é de primeira ordem, como por exemplo, a solidificação ou a fusão do material. Caso, entretanto, estas funções sejam contínuas, mas as derivadas segundas das mesmas sejam descontínuas, diz-se que a transição é de segunda ordem. Como estas derivadas segundas permitem definir outras variáveis termodinâmicas do sistema, como o coeficiente de expansão térmica (α), a capacidade calorífica a pressão constante (C_p) e o coeficiente de compressibilidade isotérmico (κ_T):

$$\alpha = \frac{1}{V} \left[\frac{\partial V}{\partial T} \right]_{P} = \frac{1}{V} \left[\frac{\partial^{2} G}{\partial P \partial T} \right]$$
(4)

$$C_{P} = -T \left[\frac{\partial^{2} G}{\partial T^{2}} \right]_{P} = T \left[\frac{\partial S}{\partial T} \right]_{P}$$
(5)

$$\kappa_T = -\frac{1}{V} \left[\frac{\partial V}{\partial P} \right]_T = - \left[\frac{\partial^2 G}{\partial P^2} \right]$$
(6)

Espera-se que nas transições de fase de segunda ordem estas grandezas possuam diferenças finitas nos valores de α , $C_p \in \kappa_T$, o que implica que essas grandezas em função da temperatura devem ser descontínuas na temperatura de transição entre as duas fases. E isto ocorre e pode ser observado na transição vítrea, porém esta interpretação carece de outras comprovações experimentais por vários motivos e, portanto, não se trata de uma transformação de fase de segunda ordem genuína. Um dos motivos já relatado é que a temperatura de transformação vítrea é dependente da história térmica do vidro e, portanto, função de parâmetros cinéticos como a taxa de resfriamento em que o fundido é submetido e, desse modo, a T_g pode sofrer variações de dezenas de graus Celsius, o que não seria esperado se o fenômeno de transição vítrea

fosse puramente uma transição de fase de segunda ordem. Outros resultados experimentais também indicam que fatores cinéticos influenciam a transição vítrea e outras teorias tentam explicá-la a partir de um modelo cinético [37-40].

1.3.1.2 Processo de relaxação

O processo de relaxação é um modelo cinético proposto por Kauzmann para explicação do fenômeno de transição vítrea e ocorre em um líquido super-resfriado. Se o sistema for submetido a um estímulo externo e for medida uma determinada propriedade ao longo do tempo, o sistema estando em equilíbrio, suas propriedades serão invariantes. No entanto, se houver uma mudança desta propriedade durante a medição, sugere-se que o sistema não estava em equilíbrio e o estimulo levará o sistema a relaxar até atingir o equilíbrio. Como a Tg não é única, pois depende da escala de tempo do experimento observado, a mudança configuracional do sistema torna-se altamente lenta com a diminuição da temperatura e consequente aumento da viscosidade até que em uma dada temperatura (Tg) o material torna-se um sólido. Para tempos de observação (t_0) longos, comparados com o tempo de relaxação estrutural (τ_r), o material comporta-se como um líquido, enquanto que para tempos de observação curtos, o material apresenta-se como um sólido. A transição vítrea ocorrerá se os valores dos parâmetros que definem o estado líquido ou o sólido diferirem significativamente com respeito ao tempo, como a capacidade calorífica. Desse modo a Tg ocorrerá quando $t_0 \approx \tau_r$, alterando a ergodicidade do material, isto é, quebra ou recuperação de uma situação de equilíbrio dentro de certa escala de tempo (tempo de observação - t_o). Desse ponto de vista, a transição vítrea é considerada uma transição cinética [37-39].

1.3.1.3 Volume livre

A teoria do volume livre apresenta similaridades com o modelo de relaxação e foi proposta inicialmente para fluidos, admitindo serem compostos por esferas rígidas, que oscilavam termicamente em torno de pontos médios e que suas posições são ditas "ocupadas". Dentro do volume total haveria posições "desocupadas" denominadas volume livre, em que as esferas poderiam se mover. É admitido que o transporte molecular pode ocorrer somente através dos espaços vazios da rede. Nesse modelo a transição vítrea resulta na diminuição do volume livre na fase amorfa, abaixo de certos valores característicos [36, 37]. Outros modelos foram propostos para explicar o fenômeno de transição vítrea, porém nenhum deles é considerado completo, pois devem ser levados em consideração fatores termodinâmicos e cinéticos conjuntamente [37].

1.3.2 Formação vítrea

Os primeiros vidros produzidos artificialmente foram aqueles cuja composição era baseada na sílica, enquanto alguns tipos de materiais pareciam nunca vitrificar com as técnicas disponíveis. Isto sugeria que a formação vítrea estava ligada a aspectos estruturais dos vidros e, por isso, as teorias estruturais foram as primeiras a serem propostas para a explicação da formação vítrea. Com o avanço das pesquisas e conhecimentos científicos foi verificado que, em princípio, qualquer material orgânico ou inorgânico poderia ser transformado em um vidro, utilizando diversas técnicas. Esse conhecimento fez surgir as teorias cinéticas da formação vítrea em que a questão crucial deixou de ser se um material formará um vidro, mas qual a taxa de resfriamento apropriada para evitar a cristalização e obter-se um vidro [34, 36, 37].

1.3.2.1 Teorias de formação estrutural

A teoria de formação estrutural de vidros teve início com Goldschmidt que baseado na observação, postulou que compostos com a formula geral A_nO_m formavam vidros mais facilmente quando a razão entre o raio iônico do cátion A e do oxigênio estivesse entre 0,2 e 0,4, correspondendo ao arranjo tetraédrico dos oxigênios ao redor do cátion; no entanto alguns compostos como BeO não seguiam esta regra [34, 42, 43]. Posteriormente, Zachariasen publicou seu artigo no ano de 1932 [42], estabelecendo considerações que o levaram a regras empíricas para formação vítrea. Foi considerado:

- 1. As forças de ligação interatômica em vidros e em cristais devem ser similares, devido às semelhanças entre as propriedades mecânicas dos dois tipos de sólidos.
- Como nos materiais cristalinos, o vidro consiste em uma estrutura com rede tridimensional, porém com caráter difuso como mostra o difratograma de difração de raios X. A rede não é simétrica e periódica como em um cristal (não há ordem a longo alcance).

A rede pode ser comparada a uma única molécula ou sistema com uma célula unitária gigante. A desordem estrutural explicaria o fato da energia contida em

um vidro ser maior que em um cristal [36]. Na FIG. 4 é representada a idealização bidimensional da estrutura cristalina de um cristal e de um vidro com a mesma composição A_2O_3 proposta por Zachariasen.



FIGURA 4: Representação bidimensional idealizada por Zachariasen de um cristal(a) e de um vidro (b), ambos com composição A₂O₃ [42].

A partir dessas considerações, Zachariasen formulou as seguintes regras para formação vítrea:

- 1. O átomo de oxigênio deve estar ligado a não mais que dois cátions;
- 2. O número de oxigênios que circundam o cátion deve ser pequeno;
- As estruturas poliédricas formadas por estes átomos não devem compartilhar as arestas ou faces, mas somente os vértices;
- 4. Cada poliedro deve compartilhar ao menos três vértices com outros poliedros.

A partir dessas regras, Zachariasen classificou os óxidos em formadores, intermediários e modificadores de rede.

Os formadores de vidro são aqueles que participam da estrutura fundamental do vidro e possuem a tendência covalente em suas ligações químicas como SiO₂, B₂O₃ e P₂O₅. Os modificadores são aqueles que modificam algumas propriedades dos vidros como temperatura de fusão e viscosidade, facilitando a obtenção do vidro, e apresentam ligações iônicas com ânions da rede vítrea. Como exemplos pode-se citar os cátions K⁺, Na⁺, Fe²⁺ e Ca²⁺. Finalmente, os intermediários são aqueles que atuam como modificadores e formadores. O Be²⁺, Zn⁴⁺, Sn⁴⁺ e Ga³⁺ são alguns exemplos de intermediários.

1.3.2.2 Teorias de formação cinética

Estas teorias baseiam-se em processos chamados de nucleação e crescimento de cristais. Quando um líquido é resfriado sob condições favoráveis, surgem pequenos aglomerados que constituem o ponto de partida para regiões organizadas. Esses aglomerados denominados embriões apresentam flutuações constantes no tamanho e aparecem e desaparecem de acordo com mudanças estruturais produzidas pela agitação térmica. Quando o embrião atinge um tamanho crítico, com alta estabilidade termodinâmica, ele passa a ser chamado de núcleo e o processo de formação de núcleos é denominado nucleação. A nucleação que ocorre de modo randômico pelo material é dita ser homogênea; no entanto, se a nucleação ocorre em regiões preferenciais, comumente a superfície do material, é dita ser heterogênea. A nucleação heterogênea é muito comum, pois em geral ela ocorre devido a imperfeições e impurezas no material. Após a formação do núcleo, a etapa que segue é o crescimento de cristal, em que átomos do líquido começam a se organizar, seguindo a estrutura do núcleo e quando este processo termina, o material está completamente cristalizado. Nessa teoria, a formação de vidros dependerá da taxa de nucleação e de crescimento de cristais de um determinado material, em que a cristalização poderá ser evitada [34].

1.3.3 Vidros fosfatos

Vidros fosfatos puros foram desenvolvidos há mais de 100 anos por Schott e colaboradores na utilização como elementos óticos acromáticos; no entanto, a baixa durabilidade química destes vidros limitava suas aplicações e desenvolvimento [44]. Vidros fosfatos consistem em vidros em que o formador é o P₂O₅, que atende a diversos critérios previstos pela teoria de formação estrutural de vidros proposta por Zachariasen [42]. Com a adição de modificadores na composição destes vidros, hoje são considerados os terceiros em importância comercial e tecnológica, perdendo somente para os vidros silicatos e boratos. São comumente produzidos pela mistura dos materiais precursores e obtidos pelo tradicional processo de fusão/resfriamento em um forno a temperaturas, em geral, entre 800 °C e 1300 °C, dependendo dos compostos precursores utilizados [45]. Os vidros fosfatos são bons hospedeiros de íons de terras-raras e são considerados excelentes matrizes para a acomodação de íons Nd³⁺ e Er³⁺, tornando-se meios laser ativos. Lasers de alta potência constituídos de matrizes vítreas de fosfato

dopados com neodímio já foram desenvolvidos e são utilizados para o processo de fusão nuclear [44]. Mais recentemente, estes vidros foram usados para uma série de aplicações, como para selagem vítrea, imobilização de rejeitos radioativos e, devido sua biocompatibilidade, também em aplicações médicas. A estrutura destes vidros, assim como em vidros silicatos, não apresenta ordem do arranjo atômico a longo alcance ou simetria, mas existe uma ordem de curto alcance e a unidade básica de vidros fosfatos puros é o ultrafosfato (tetraedro formado por um átomo de fósforo central circundado de quatro átomos de oxigênio nos vértices – $[PO_4^{3-}]$), em que um dos oxigênios está conectado ao fósforo por uma dupla ligação e os outros três apresentam ligação simples e podem agir como "ponte" para outros tetraedros ultrafosfatos, como mostrado na FIG. 5



FIGURA 5: Estrutura básica de vidros ultrafosfatos [38].

Estes oxigênios que atuam nas ligações covalentes P - O - P entre os tetraedros são denominados oxigênios "ponte", polimerizando os tetraedros interconectados, podendo formar cadeias, anéis ou redes ramificadas. O vidro fosfato puro pode ser produzido com facilidade, mas é muito reativo e higroscópico, possuindo apenas interesse científico. No entanto, adicionando-se outros componentes denominados modificadores de rede, pode-se obter um vidro fosfato com maior durabilidade química e com interesse tecnológico. A adição de modificadores de rede, tais como Na₂O e CaO, resulta em uma clivagem das ligações P - O - P e surgimento de oxigênios "não-pontes" na estrutura do vidro, e este processo é denominado despolimerização da rede [39]. Na FIG. 6 é mostrada a estrutura de vidros fosfatos puros e vidros fosfatos com adição de modificadores.



FIGURA 6: Esquema da estrutura de vidros fosfatos. a) vidros fosfatos puros. b) vidros fosfatos com adição de modificadores catiônicos, provocando o rompimento de ligações P - O - P e aparecimento de oxigênios "não pontes" [39].

A estrutura do vidro fosfato resultante após adição de modificadores contém oxigênios "pontes" ligados aos tetraedros por ligações covalentes e oxigênios "nãopontes" ligados, em geral, por ligações iônicas chamadas "ligações cruzadas", aos cátions adicionados à composição. Estes tetraedros ligados por meio de ligações covalentes com oxigênios "pontes" formam vários ânions fosfatos, que são classificados usando a terminologia Qⁱ em que i representa o número de oxigênios "pontes" por tetraedro, como mostrado na FIG. 7.



FIGURA 7: Possíveis tetraedros fosfatos em vidros fosfatos [44].

Define-se os grupos Qⁱ conforme expresso na TAB. 1:

Grupos	Nomenclatura
Q ⁰	Ortofosfato
Q^1	Pirofosfato
Q^2	Metafosfato
Q^3	Ultrafosfato

TABELA 1: Nomenclatura dos grupos Qⁱ

À medida que se aumenta o teor de cátions modificadores monovalentes na rede, há uma alteração da distribuição eletrônica relacionada à ligação dupla entre oxigênios "não-ponte" e o fósforo. Desse modo, há uma reformulação das distribuições eletrônicas das ligações simples, alterando a polarizabilidade. O aumento da durabilidade química está relacionado a estas variações [44].

Devido à diferença dos raios iônicos dos íons K^+ , Na^+ e Li^+ , há uma variação da força de ligação iônica entre o oxigênio e os grupos tetraédricos Q^i com o cátion alcalino. Quando estes elementos são adicionados ao vidro fosfato, há um aumento da durabilidade química na seguinte ordem: K, Na, Li [44].

As propriedades dos vidros fosfatos, como tendência à cristalização, propriedades mecânicas ou estabilidade contra o ataque hidrolítico, dependem não somente da estrutura vítrea, mas também da carga elétrica e do raio iônico (isto é, da razão carga/raio) dos cátions modificadores da rede [39].

Além dos formadores e modificadores de rede, há uma terceira classe de componentes denominadas óxidos intermediários, que funcionam como formadores e modificadores da rede concomitantemente, ou seja, rompendo ligações P - O - P e gerando oxigênios "não-ponte" e também agindo como formador, entrando na rede vítrea e criando ligações P - O - M - O - P (M =átomo do óxido intermediário), caracterizado por ligações covalentes com a rede vítrea [39].

1.3.4 Durabilidade química de vidros

A durabilidade química de vidros pode ser definida em termos gerais como a resistência da superfície do vidro à corrosão, isto é, a resistência a mudanças físico – químicas causadas pela interação da superfície com o ambiente [46]. Há três mecanismos de ataque: o regime cinético, a dissolução uniforme da rede vítrea e a dissolução preferencial. No regime cinético, íons do meio fluido invadem a estrutura vítrea através dos interstícios e ocorre a troca iônica, em que íons modificadores do vidro passam a ser lixiviados para o meio. Em seguida, as ligações da rede vítrea são quebradas dando origem a oxigênios "não-ponte", resultando em uma gradual dissolução da rede. A superfície começa a ser corroída e a taxa de corrosão é geralmente linear com o tempo. A dissolução uniforme ocorre quando toda a composição do vidro passa a ser lixiviada para o meio e a preferencial passa a ocorrer devido à microestrutura das fases do vidro, em que algumas regiões do vidro possuem composição que são mais facilmente atacáveis pelo meio [39].

Para vidros fosfatos, são três os mecanismos que atuam na dissolução: hidratação, hidrólise e reações acido/base. As reações de hidrólise são as responsáveis diretas pela quebra das ligações -P - O - P - e são mais importantes em soluções de baixo pH. A baixa durabilidade química de vidros ultrafosfatos é atribuída à abundância de cadeias -P - O - P - facilmente hidrolisáveis. A difusão de moléculas de água no vidro fosfatado indica hidratação, liberação e subsequente transporte de toda cadeia polifosfatada na solução. Reações ácido/base entre íons ⁺H e ⁻OH e os grupos P - O -M (M = cátion) afetam as interações iônicas entre as cadeias polifosfatadas e auxiliam o processo de hidratação no transporte de toda a cadeia para a solução [47].

Técnicas para melhorar a durabilidade química dos vidros são baseadas na redução da concentração de íons alcalinos na superfície do vidro ou formação de uma barreira que impeça a aproximação de íons do fluido a fim de evitar o mecanismo de troca iônica (para vidros silicatos) [39]. Também se altera a composição do vidro com inserção de modificadores de rede, que são capazes de alterar a polarizabilidade dos elementos constituintes do vidro para que a durabilidade química possa aumentar. No caso de vidros fosfatos, alguns estudos mostraram que estes vidros são compostos de uma estrutura do tipo polimérica de tetraedros PO₄ interconectados. A unidade básica desse sistema são compostos dos grupos $[PO_4]^{3-}$, que podem se interligar a três outros tetraedros através da formação de ligações -P - O - P -, como ocorre no P_2O_5 cristalino. A adição de cátions na proporção de um cátion para uma unidade de P_2O_5 provoca a despolimerização da rede tridimensional do fosfato, através da quebra de ligações -P -O – P –, favorecendo o aparecimento de oxigênios "não-ponte" e diminuindo o tamanho das cadeias poliméricas. Os cátions adicionados a composição de vidro, por sua vez, podem ligar-se ionicamente aos oxigênios "não-ponte" formados, e o aumento da energia dessas ligações iônicas melhora a durabilidade química desses vidros, tornandoos mais resistentes, inclusive mecanicamente [47].

1.4 Microesferas radioativas

1.4.1 Atividade

Átomos instáveis são desintegrados para atingir a estabilidade por meio do processo de decaimento radioativo. Este processo pode ser representado matematicamente por uma equação diferencial linear de primeira ordem:

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N \tag{7}$$

em que N representa o número de átomos de uma espécie radioativa e λ é a constante de decaimento de um particular radionuclídeo [47]. Integrando a equação (7) tem-se:

$$\int_{N_0}^{N_t} \frac{dN}{N} = -\int_0^t \lambda dt \tag{8}$$

e consequentemente obtém-se:

$$N_T = N_0 e^{-\lambda t} \tag{9}$$

Desse modo, o número de átomos radioativos decai exponencialmente com o tempo. A taxa de decaimento, que é o número de decaimentos por unidade de tempo de uma amostra radioativa, também chamada de atividade, é descrita como:

$$A = \lambda N \tag{10}$$

Usando as equações (8) e (9) pode-se obter:

$$A = A_0 e^{-\lambda t} \tag{11}$$

em que $A_0 = N_0\lambda$ e $A = N\lambda$ são as atividades da amostra no instante inicial e no instante t, respectivamente. A unidade de atividade é o Becquerel (Bq), que corresponde a 1 desintegração por segundo no sistema internacional de unidades (SI) [48, 49].

1.4.2 Decaimento β⁻

Este tipo de decaimento ocorre em um radionuclídeo pai com excesso de nêutrons em relação ao número de prótons, em que há a emissão de um elétron (partícula β) e um anti-neutrino (v_e), para que o radionuclídeo transmute-se em um nuclídeo filho e atinja a estabilidade. Uma reação típica pode ser descrita pela reação (12):

$${}^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A}_{Z+1}Y + \beta^{-} + \nu_{e}$$
⁽¹²⁾

No caso do fósforo e hólmio que foram utilizados neste trabalho tem-se:

$$^{32}_{15}P \rightarrow ^{32}_{16}S + \beta^- + \bar{\nu}_e$$
⁽¹³⁾

$$^{166}_{67}Ho \rightarrow ^{166}_{68}Er + \beta^{-} + \nu^{-} + \gamma$$
(14)

Porém, no caso do hólmio tem-se decaimento $\beta^{-} e \gamma$.

A energia de desintegração do fósforo é 1,71 MeV, sendo liberada durante o decaimento, e é compartilhada entre a partícula β^{-} e o anti-neutrino (para o hólmio a energia de desintegração é 1,85MeV). Não se sabe quanto de energia cinética cada partícula terá, mas sabe-se que o valor máximo $E_{máx}$ será 1,71 MeV e, se este ficar com uma das partículas, a outra fica com energia cinética nula. Desse modo, o espectro de energia das partículas β^{-} é contínuo. Na interação da partícula β^{-} com o corpo humano é importante a determinação da energia média <E>, que vale 30 a 40% do valor de $E_{máx}$ e equivale à quantidade de energia depositada no corpo. No caso do ³²P, a energia média é 0,698 MeV = 0,41 $E_{máx}$. Portanto, para propósitos de rápida avaliação da energia total armazenada em um corpo por partículas β^{-} , usa-se a relação <E> = 1/3 $E_{máx}$ [49].

1.4.3 Seção de choque para absorção de nêutrons

Os nêutrons podem interagir com o núcleo dos átomos de um material e espalharem elástica ou inelasticamente, podem ser absorvidos e consequentemente provocar reações nucleares diversas. Além disso, da mesma maneira que os fótons, nêutrons podem atravessar diversas camadas atômicas sem que ocorra qualquer interação, pois a força nuclear forte tem alcance muito curto e só atua entre o nêutron e o núcleo [50]. A pergunta sobre quais são as probabilidades de ocorrência desses processos, para condições dadas, tem considerável importância teórica e prática como no projeto da blindagem e no funcionamento de um reator nuclear ou escolha dos elementos constituintes de radiofármacos. A resposta a essa pergunta é expressa em termos de quantidades denominadas seções de choque. A probabilidade de um nêutron com uma dada energia ser absorvido ao passar pelo material é dada pelo valor da seção de choque de absorção de nêutrons σ_{An} [51, 52]. Em geral, quanto maior a energia dos nêutrons, maior será sua penetração, pois a seção de choque de boa parte das interações diminui com o aumento da energia cinética [50]. Esta medida da probabilidade de ocorrência de absorção de nêutrons é definida de forma que o número de absorções neutrônicas N_{An} que ocorrem seja dado por

$$N_{An} = \sigma_{An} \cdot I \cdot N \tag{15}$$

quando um feixe de I nêutrons incide sobre um material que contém N átomos por unidade de área. Supõe-se aqui que o material é suficientemente fino para que a probabilidade de um nêutron ser absorvido ao passar por ele seja muito menor que um.

A equação (15) é um modelo para as definições de todas as seções de choque, como no caso de uma reação de absorção de nêutrons, que a desexcitação do núcleo pode envolver a emissão de partículas alfa, elétrons, pósitrons, prótons, raios gama ou, no caso de fissão, fragmentos de fissão, podendo associar para estes diferentes tipos de "caminhos" de decaimento uma seção de choque específica, como σ_{α} para emissão α , σ_{β} para emissão beta, e assim sucessivamente [53, 54]. Desse modo é suficientemente importante justificar uma interpretação física mais cuidadosa desta definição [55]. Antes de qualquer coisa, nota-se que o número N_{An} de absorções deve certamente ser diretamente proporcional ao número I de nêutrons incidentes sobre a

folha. Outrossim, se o material é fino, no sentido especificado anteriormente, seus átomos não farão "sombra" uns aos outros, relativamente ao feixe incidente. Então o número N_{An} também deve ser diretamente proporcional ao número N de átomos por unidade de área da folha. Portanto pode-se escrever:

$$N_{An} \propto I \cdot N$$
 (16)

Se essa proporcionalidade for escrita na forma de uma igualdade, denominando $\sigma_{An a}$ constante de proporcionalidade, obtém-se a equação (15), que define a seção de choque. Portanto, a seção de choque de absorção neutrônica, cujo valor depende tanto da energia do nêutron quanto do tipo de átomo, mede o quanto esses átomos são efetivos na absorção de nêutrons. Como as quantidades N_{An} e I são adimensionais, e N tem dimensão de (área)⁻¹, fica claro que σ_{An} deve ter dimensão de área, o que justifica a sua denominação.

As seções de choque são freqüentemente expressas em termos da unidade 10^{-24} cm² e esta unidade é denominada barn, sendo abreviada como b [49, 51, 55]. Frequentemente se dá uma interpretação geométrica à seção de choque, imaginando-se que um círculo de área σ_{An} , centrado em cada átomo do material e no plano deste, tem a propriedade de que todo nêutron que passa por ele é absorvido pelo átomo na absorção neutrônica. Essa interpretação geométrica é conveniente para visualização e mesmo para cálculos, mas não deve ser tomada como literalmente verdadeira, pois seções de choque nucleares apresentam valores na faixa de frações de barn até centenas de milhares de barn e estes valores podem diferir bastante da seção de choque geométrica [51, 55]. Uma seção de choque é na verdade apenas uma maneira de expressar numericamente a probabilidade de que um certo tipo de átomo e um nêutron, de dada energia, interajam em um determinado processo, ou seja, a seção de choque para uma absorção neutrônica pode ser definida como uma medida quantitativa da probabilidade de ocorrer a captura de um nêutron.

1.4.4 Ativação

A ativação neutrônica, radioativação ou simplesmente ativação é o processo por meio do qual é possível obter uma determinada espécie radioativa, bombardeando o núcleo estável de um átomo colocado na direção de um feixe de nêutrons, na qual existem nêutrons de diferentes velocidades [56]. O tempo de interação varia em função de alguns parâmetros desejados e, assim mesmo, nem sempre o isótopo obtido é radioativo [54, 57]. Na ativação, a seção de choque de absorção de nêutrons é importante e aumenta à medida que diminui a velocidade do nêutron. Quando os nêutrons são dispersos num dado meio, podem atingir um estado energético tal que numa nova colisão tanto podem perder quanto ganhar energia. Quando esse estado é atingido, o nêutron se acha em equilíbrio térmico com o meio e sua probabilidade de ganhar ou perder energia numa outra colisão é igual para todos os nêutrons, que passam a ser denominados nêutrons térmicos. Estes nêutrons são extremamente importantes para a ativação, pois possuem baixa velocidade e como a seção de choque de absorção de nêutrons σ_{α} é inversamente proporcional à velocidade V, ela assumirá valores consideráveis dependendo do átomo bombardeado:

$$\sigma_a \propto rac{1}{V}$$
 (17)

Para nêutrons térmicos:

$$\sigma_{a_0} \propto \frac{1}{V_0} \therefore \frac{\sigma_a}{\sigma_{a_0}} = \frac{V_0}{V}$$
 (18)

em que σ_{a_0} é a seção de choque térmica de absorção.

Supondo um feixe de nêutrons bombardeando um material, cada nêutron absorvido produz um novo isótopo e o número de isótopos produzidos na unidade de tempo é proporcional ao fluxo de nêutrons, à seção de choque de absorção e à densidade de átomos da amostra. Portanto

$$\frac{dN_a}{dt} = n(V) \cdot V \cdot N \cdot \sigma_a \tag{19}$$
em que n(V).V é o fluxo de nêutrons.

Se interessar somente isótopos produzidos por nêutrons térmicos (baixa velocidade), deve-se substituir σ_a por σ_{a_0} :

$$\frac{dN_a}{dt} = n(V) \cdot V_0 \cdot N \cdot \sigma_{a_0} \tag{20}$$

é o número de isótopos produzidos no intervalo de tempo dt [55, 57]. No entanto, é necessário considerar o decaimento do isótopo filho. Se o número do radioisótopo filho na amostra é N_a e a constante de decaimento λ , então a taxa de perda dos radioisótopos filho será λN_a . Desse modo:

$$\frac{dN_a}{dt} = n(V) \cdot V_0 \cdot N \cdot \sigma_{a_0} - \lambda N_a$$
⁽²¹⁾

Esta equação pode ser integrada para obter-se:

$$N_{a}(t) = \frac{nV_{0}\sigma_{a_{o}}N}{\lambda}(1-e^{-\lambda t})$$
⁽²²⁾

em que t é o intervalo de tempo para irradiação da amostra. A taxa na qual os núcleos radioativos decaem é então:

$$\lambda N_a(t) = n V_0 \sigma_{a_o} N(1 - e^{-\lambda t})$$
⁽²³⁾

Essa equação é a base do método geralmente usado para determinar a seção de choque para ativação de um nuclídeo, quando a densidade de nêutrons n é conhecida, ou para determinar a densidade de nêutrons, quando é conhecida a seção de choque para ativação [55, 57].

As reações nucleares que produzem núcleos radioativos, também denominadas reações de transmutação, apresentam os seguintes mecanismos [55]:

 Reação de captura de um nêutron por um núcleo acompanhado de emissão gama:

$${}_{1}^{1}H + n \longrightarrow {}_{1}^{2}H + \gamma \tag{24}$$

• Reações de troca entre um nêutron e um próton:

$${}^{14}_{7}N + n \rightarrow {}^{14}_{6}C + p \tag{25}$$

• Reações com emissão de partículas:

$${}_{3}^{6}Li + n \longrightarrow {}_{1}^{3}H + {}_{2}^{4}He \tag{26}$$

• Produção de radiosótopos:

$$^{27}_{13}Al + n \rightarrow ^{24}_{11}Na + ^{4}_{2}He$$
(27)

Uma notação conveniente e bastante usada destas reações é mostrada a seguir, representando a reação de captura neutrônica seguida de emissão gama do hidrogênio, transmutando-se para deutério:

$${}_{1}^{1}H(n,\gamma){}_{1}^{2}H$$
 (28)

2. OBJETIVOS

Estudo e desenvolvimento de novas composições de vidros fosfato contendo hólmio com durabilidade química, densidade e estabilidade térmica adequadas para a produção de microesferas apresentando forma, granulometria, biocompatibilidade e atividade apropriadas para os testes de viabilidade "in vivo".

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Vidros fosfatos foram desenvolvidos baseados em diagramas de fases de composições similares ao vidro proposto [58, 59] e também em trabalhos previamente reportados [14].

As novas composições foram obtidas fundamentadas em artigos que relacionam a composição química com durabilidade química, estrutura interna, densidade e propriedades térmicas de vidros fosfatos [60-70].

As principais composições produzidas foram separadas em dois tipos: o primeiro, baseado em vidros fosfatos contendo lantânio [58, 59] e o segundo em vidros fosfatos produzidos previamente no Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais do IPEN, e que apresentavam uma razoável durabilidade química, embora não adequada para aplicação em radioterapia interna seletiva [14].

3.1.1 Vidros fosfatos contendo hólmio em substituição ao lantânio e previamente produzidos pelo IPEN.

Encontram-se publicados trabalhos em que foram desenvolvidos vidros fosfatos com lantânio com durabilidade química entre 10^{-7} e 10^{-8} g/cm².min e densidade entre 3,3 e 2,7 g/cm³, adicionando alumina [58]. O hólmio possui configuração eletrônica e raio covalente semelhante ao do lantânio e a substituição do lantânio pelo hólmio poderia resultar num vidro fosfato contendo hólmio com durabilidade química ideal para as aplicações propostas neste trabalho. A TAB. 2 apresenta as composições baseadas em vidros fosfatos que continham lantânio.

Amostra	P_2O_5	Ho ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Li ₂ O	MgO
HoP ₁	40	10	10	3	-	37
HoP ₂	45	10	5	20	-	20
HoP ₃	75	25	-	-	-	-
HoP ₄	50	10	5	27	-	8
HoP ₅	70	10	15	-	5	-
HoP ₆	70	10	10	-	10	-
HoP ₇	50	10	5	10	15	10
HoP ₈	65	15	5	-	5	10
HoP ₉	65	20	5	-	10	-
HoP ₁₀	60	15	10	-	5	10

TABELA 2: Composição nominal das amostras (mol%).

Também foram previamente desenvolvidos no IPEN vidros fosfatos promissores para produção de microesferas vítreas [14], mas que necessitavam de aperfeiçoamento em sua durabilidade química; portanto novas composições foram propostas neste trabalho. Exceção feita à composição MVP_9C_1 (Ver TAB. 3), as composições da forma MVP_xC_y inicialmente não continham hólmio, por se tratar de um composto de alto custo e de experimentos inéditos em que não se sabia ao certo se as composições testadas formariam vidro. Empreenderam-se, a princípio, a produção e a pesquisa de composições inéditas e as melhores foram selecionadas para incorporação do óxido de hólmio, segundo os seguintes critérios: formação de microesferas com forma, durabilidade química e densidade adequada dos vidros. A TAB. 3 apresenta as composições testadas.

Amostra	P_2O_5	Ho ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂	MgO	Na ₂ O
MVP ₉ C ₁	32,4	1,6	6,1	3,1	56,8	-
MVP ₉ C ₂	26	-	3,6	24,6	45,8	-
MVP ₉ C ₃	26,8	-	3,7	31,7	37,8	-
MVP ₉ C ₄	22	-	3,4	23,1	51,6	-
MVP ₉ C ₅	37,2	-	4,3	36,7	21,8	-
MVP_1C_1	30,3	-	12,6	35,8	21,3	-
MVP_2C_1	34,1	-	10,4	33,7	21,8	-
MVP_3C_1	28,3	-	8,2	27,9	18,7	17
MVP_4C_1	43,9	-	13	43,1	-	-
MVP ₅ C ₁	39	-	11,3	38,5	-	10,9

TABELA 3: Composição nominal das amostras (mol%).

3.1.2 Incorporação do óxido de hólmio

A incorporação do óxido de hólmio ao material vítreo foi feita nas composições MVP_4C_1 e MVP_5C_1 , pois apresentaram melhores propriedades, como será descrito posteriormente. Estas composições estão na TAB. 4:

TABELA 4: Composição nominal das amostras com incorporação de hólmio (mol%).

Amostra	P_2O_5	Ho ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Na ₂ O
MVP ₄ HoC ₁	41,3	4,3	12,6	41,8	-
MVP ₅ HoC ₁	36	3,9	11,9	36,5	11,8

Para a determinação destas composições foram mantidas as relações molares entre os componentes da matriz vítrea que apresentaram durabilidade química adequada para a aplicação pretendida, a saber: MVP_4C_1 ($P_2O_5/SiO_2\approx1$; $SiO_2/Al_2O_3\approx3,3$) e MVP_5C_1 ($P_2O_5/SiO_2\approx1$; $SiO_2/Al_2O_3\approx3,3$; $Al_2O_3/Na_2O\approx1$; $P_2O_5/Na_2O\approx3,6$).

3.2 Métodos

3.2.1 Síntese

Os compostos precursores foram misturados e homogeneizados durante 30 min com um pistilo e gral de sílica. O material obtido foi condicionado em um cadinho de alumina e aquecido em um forno elétrico com taxa de aquecimento 10°C/min até 700 °C, e mantido por 30 min nesta temperatura para liberação de gás amônia e gás carbônico, conforme reações químicas:

$$2[(NH_4)_2HPO_4] \to 4NH_3 + P_2O_5 + 3H_2O$$
(29)

$$\text{Li}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{Li}_2\text{O} + \text{CO}_2 \tag{30}$$

$$Na_2CO_3 \rightarrow Na_2O + CO_2 \tag{31}$$

Após liberação dos gases, o cadinho foi fechado com tampa de alumina para evitar a volatilização de fosfato, transferido para um forno elétrico com carregamento vertical (Carbolite BLF1700) e aquecido para fusão do material de partida entre 1400 °C e 1600 °C com taxa de aquecimento 10 °C/min. O líquido foi mantido nesta temperatura durante 2 h para homogeneização e afinagem, e agitado a cada 30 min com uma barra de sílica. O líquido foi vertido em moldes de aço inoxidável à temperatura ambiente e, após o resfriamento, o material foi triturado e moído em um moinho planetário com esfera de tungstênio (Pulverizette) ou em um dispositivo de aço inox solicitado por um martelo, apresentado na FIG. 8:



FIGURA 8: Dispositivo para moagem das amostras.

A separação na faixa granulométrica 45 μ m < ϕ < 63 μ m, que em trabalhos anteriores mostrou-se apropriada para produção de microesferas com tamanho adequado

para o tratamento do CHC [6], foi feita com peneiras de aço-inox (Abronzinox). As microesferas primeiramente foram produzidas pelo método da chama, que consiste em lançar as partículas vítreas por meio de uma espátula vibratória diretamente em uma chama e, devido à diminuição da viscosidade do vidro e atuação da tensão superficial, há conformação do pó irregular em microesferas. Este método está representado na FIG. 9 e é considerado rápido, prático e de baixo custo, e as microesferas obtidas são avaliadas pela sua capacidade de esferolização.

Esferolização por chama



FIGURA 9: Aparato experimental para produzir microesferas pelo método da chama.

Após a constatação da obtenção de microesferas com forma adequada para o tratamento, foram produzidas microesferas pelo método da queda gravitacional, por meio de um forno tubular (Lindberg Blue M) em que se utiliza o mesmo princípio físico para obtenção de microesferas. A passagem das partículas vítreas através da zona quente central do forno favorece o processo de esferolização. Este processo de esferolização possibilita a obtenção de microesferas mais uniformes e com menor número de defeitos em comparação às obtidas pelo método da chama. No entanto, o custo é maior e demanda um tempo maior para produção de microesferas. O método da queda gravitacional em forno tubular está representado na FIG. 10.

Esferolização por queda gravitacional



FIGURA 10: Aparato experimental para produção de microesferas pelo método da queda gravitacional em forno tubular.

Os melhores parâmetros para o processo de esferolização, tais como temperatura, tipo de moagem e fluxo de ar ascendente do forno, foram utilizados conforme estudo anterior [6] e as microesferas obtidas por esse método foram analisadas para verificação da possibilidade de serem utilizadas no tratamento de CHC por meio da radioterapia interna seletiva.

3.2.2 Caracterização dos vidros

As análises para a caracterização físico-química das microesferas de vidro foram realizadas no Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais (CCTM), no Centro de radiofarmácia (CR) e os testes de citotoxicidade no Centro de Biotecnologia (CB) do IPEN.

Calorimetria exploratória diferencial

As curvas de calorimetria exploratória diferencial foram obtidas em um analisador e calorímetro térmico diferencial Netzsch DSC 404 F3 Pegasus. A taxa de aquecimento foi 10°C/min. As amostras foram pesadas em uma balança com precisão de 0,01 mg e inseridas em um cadinho de alumina. A massa das amostras variou entre 40 e 54 mg. As amostras foram analisadas na faixa 20 - 1300 °C.

Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX)

A análise química das amostras foi feita por espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva em um espectrômetro Shimadzu EDX-720. As amostras foram analisadas sob vácuo na forma de pó e os colimadores possuíam diâmetro de 5 mm e 10 mm. Um filme de polipropileno de 5 μ m de espessura foi utilizado durante as medidas, para contenção da amostra. Foram obtidas cinco análises para cada amostra e o resultado foi considerado a média.

Difração de raios X

As amostras foram analisadas em um difratômetro Rigaku Multiflex, pelo método do pó. A radiação para análise foi Cukα (ânodo de cobre), a tensão 40 kV e corrente 20 mA, na faixa angular de 10° a 90° (velocidade 2° / min).

Microscopia eletrônica de varredura

As microesferas foram analisadas em microscópios eletrônicos de varredura Philips-XL30, FEI Inspect F50 e TM 3000 Table Top Microscope, sendo aplicadas voltagens entre 1 e 25 kV. As amostras foram espalhadas sobre a superfície de uma fita dupla face de carbono e foram recobertas com ouro por meio de um equipamento Sputter Coater de pulverização catódica (para sputtering) SCD 050 com argônio, submetido a uma corrente de 25 mA.

Determinação da densidade

A densidade das amostras foi determinada pelo método de picnometria a gás hélio (Quantachrome Ultrapycnometer 1000). A pressão foi de 17 psi. Foram feitas 10 análises para cada amostra e determinada a média aritmética dos valores obtidos.

Irradiação com nêutrons para avaliação da atividade e dos danos de radiação

As microesferas foram irradiadas no reator IEA-R1 IPEN-CNEN/SP durante 1 h e com fluxo de nêutrons de 1 x 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹. A amostra contendo 23 mg de microesferas foi inserida em um "eppendorf" e colocada em um cilindro de alumínio ("coelho") dentro do reator. Após a ativação neutrônica, foi avaliada a atividade da

amostra para fins terapêuticos e as microesferas foram colocadas em recipiente de chumbo para espera de tempo apropriado (mais de 10 meias-vidas do ¹⁶⁶Ho). Posteriormente foram feitas análises da atividade em espectrômetro de raios γ (detector de germânio), para monitorar a redução da atividade até os níveis seguros que permitam liberação das amostras para a análise por microscopia eletrônica de varredura, a fim de investigar a integridade física da superfície das microesferas pós-irradiação.

Avaliação da durabilidade química

As microesferas foram submersas em água destilada e em simulante de fluido corpóreo (SBF – Simulated Body Fluid) preparado com a solução de Ringer de pH 7, cuja composição é apresentada na TAB. 5:

Componente	Concentração (g/L)
Cloreto de sódio	8,60
Cloreto de cálcio	0,48
Cloreto de potássio	0,30

TABELA 5: Composição química da solução Ringer pH=7 em 1L de água deionizada

As amostras permaneceram a 50 °C em uma estufa durante 3, 6, e 10 dias. Este período é necessário pois representa aproximadamente 10 meias-vidas do radionuclídeo hólmio e após este período a emissão de radiação torna-se desprezível. Posteriormente as microesferas foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura para verificação de danos na superfície.

Teste de citotoxicidade

As amostras foram inicialmente esterilizadas com radiação gama (25 kGy) e em seguida foram colocadas em tubos "falcon" contendo 1 mL de meio de cultura RPMI sem soro, por 48 h, para preparação do extrato. Posteriormente foi realizada uma filtragem das amostras e as diluições seriadas do extrato para concentrações de 100, 50, 25, 12,5 e 6,25%. Os controles positivo e negativo foram uma solução de fenol 0,4% e polietileno de alto peso molecular, respectivamente.

A análise da citotoxicidade foi feita com o corante vital MTS (3-(4,5dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil-2Htetrazólico),utilizado para determinação do número de células viáveis em proliferação. Os extratos obtidos do material em teste, do controle positivo e do controle negativo, bem como o branco (apenas meio de cultura RPMI) foram pipetados em placas de 96 poços, sendo 50 μ L de solução por poço, em quadruplicata. Uma suspensão de células de ovário de hamster chinês (CHO-k1) com $6x10^4$ células/mL foi preparada e 50 μ L (3000 células) são pipetados por poço. Então, as células foram incubadas em estufa a 37 °C por 72 h em atmosfera umidificada com 5% de CO₂. A viabilidade celular foi medida pela adição de solução MTS com PMS (fenazina metasulfato), ou solução MTT, um acoplador de elétrons, na diluição de 20:1. Em seguida as placas foram incubadas por 2 h a 37 °C em atmosfera umidificada com 5% de CO₂. As microplacas são analisadas em espectrofotômetro de absorção óptica a 490 nm e os cálculos para obtenção dos valores de viabilidade celular seguiram o seguinte procedimento:

- Cálculo da média da densidade óptica das 4 medidas de cada diluição, do branco e do controle celular;
- 2. Subtração da média do branco das médias do controle e das diluições;
- 3. Cálculo da viabilidade celular média pela equação

$$VC = \frac{ODD}{ODC} x100 \tag{32}$$

sendo VC a viabilidade celular, ODD a média da densidade óptica da diluição e ODC a média da densidade óptica dos controles.

A partir dos dados obtidos foi plotado um gráfico de viabilidade celular em função da concentração da amostra.

Análises granulométricas

A distribuição do tamanho de partículas foi obtida pela técnica de espalhamento laser. O equipamento utilizado foi um analisador granulométrico Cilas 1064. Foi utilizado como dispersante tetrapirofosfato de sódio dissolvido em água na razão 1:50 sob ultrassom durante 60 s antes e durante as medidas. Os diâmetros médios das microesferas foram determinados por meio do modelo de Fraunhofer [71].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composições avaliadas

As composições das TABS. 2 e 3 foram produzidas, mas como se tratava de composições inéditas, muitas sequer formaram vidro e, portanto, foram descartadas. As que formaram vidros sem a presença de fases cristalinas foram investigadas a fim de se encontrar aquelas com melhores propriedades para produção de microesferas. Na TAB. 6 encontram-se os resultados das composições descartadas e aquelas consideradas promissoras.

	$\mathbf{\alpha}$	• ~	1 / 1		•		1~	1	• •	•
	1 omno	SCICOPC	deccartadae	•	nromiccorac	nara	nroducao	ae .	micropet	Arac
INDELA U.	COMDU		ucscartauas	· U	DIOIIIISSOIAS	Dara	Diouucao	uc.	mututor	uas

Amostra	Descrição do material obtido	Resultado
HoP_1	O fundido foi obtido a 1550°C e cristalizou após resfriamento	Descartado
HoP ₂	O material de partida foi submetido a 1600°C e não fundiu	Descartado
HoP ₃	O vidro foi obtido a 1450°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
HoP ₄	O vidro foi obtido a 1600°C, mas viscosidade elevadíssima	Descartado
HoP ₅	O vidro foi obtido a 1450°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
HoP ₆	O vidro foi obtido a 1500°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
HoP ₇	O vidro foi obtido a 1500°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
HoP ₈	Ocorreu cristalização parcial do vidro obtido	Descartado
HoP ₉	O fundido foi obtido a 1600°C e cristalizou após resfriamento	Descartado
HoP ₁₀	Ocorreu cristalização parcial do vidro obtido	Descartado
MVP ₉ C ₁	O fundido foi obtido a 1550°C e cristalizou após resfriamento	Descartado
MVP ₉ C ₂	Ocorreu cristalização parcial do vidro obtido a 1500°C	Descartado
MVP ₉ C ₃	Ocorreu cristalização parcial do vidro obtido a 1600°C	Descartado
MVP ₉ C ₄	O material de partida foi submetido a 1600°C e não fundiu	Descartado
MVP ₉ C ₅	O vidro foi obtido a 1550°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
MVP_1C_1	Ocorreu cristalização parcial do vidro obtido a 1600°C	Descartado
MVP_2C_1	O vidro foi obtido a 1600°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
MVP_3C_1	O fundido foi obtido a 1600°C e cristalizou após resfriamento	Descartado
MVP_4C_1	O vidro foi obtido a 1600°C sem ocorrência de cristalização	Promissor
MVP ₅ C ₁	O vidro foi obtido a 1600°C sem ocorrência de cristalização	Promissor

Após esta primeira etapa as composições consideradas promissoras foram investigadas por meio de várias técnicas. As composições que não possuíam alguma propriedade essencial para aplicação na terapia pretendida foram então descartadas. As principais características são formar microesferas com forma apropriada, ter durabilidade química adequada para o tratamento de radioembolização, não possuir densidade superior a 3,5 g/cm³ [6] e não serem citotóxicas. As melhores composições foram selecionadas para incorporação e aumento do teor de óxido de hólmio em sua estrutura.

Para produção de microesferas constatou-se que durante o processo de moagem e peneiramento do pó de vidro, a composição MVP_9C_5 mostrou-se altamente higroscópica, apresentando aglomeração do pó e até molhando as peneiras de aço e desse modo impedindo o peneiramento e a produção de microesferas. Esta composição foi descartada. A foto da FIG. 11 mostra o pó após 3 dias da moagem.



FIGURA 11: a) Vidro soda cal comercial (vidro de janela) e b) Composição MVP₉C₅, após 3 dias da moagem.

4.2 Espectrometria de fluorescência de raios X

Foi feita a análise semi-quantitativa para determinação da composição química dos vidros desenvolvidos. A técnica utilizada foi a espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva e os resultados estão na TAB. 7:

Vidro	P_2O_5	Ho ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Li ₂ O	Na ₂ O	Lu ₂ O ₃	MgO
HoP ₃	53,2 (3)	17,9(5)	3,42(21)	7,2(4)	-	17,21(11)	1,2(6)	-
HoP ₅	52,7(6)	7,9(5)	22,5(6)	8,2(3)	5	3,4(3)	0,271(11)	-
HoP ₆	53,05(16)	8,0(4)	17,3(6)	5,05(13)	10	6,3(8)	0,311(23)	-
HoP ₇	42,64(17)	8,33(23	10,4(3)	12,23(16)	15	4,26(29)	0,257(12)	6,88(18)
MVP_2C_1	39,56(12)	-	11,47(24)	37,8(4)	-	-	-	11,34(13)
MVP_4C_1	34,3(4)	-	14,6(4)	51,07(13)	-	-	-	-
MVP_5C_1	37,87(28)	-	14,3(3)	42,88(21)	-	5,02(16)	-	-

TABELA 7: Composição semi-quantitativa dos vidros fosfatos (mol%).

Notam-se algumas impurezas como HoP₃, HoP₅, HoP₆ e HoP₇, em que foram encontrados Na₂O e Lu₂O₃. Estas impurezas advêm dos materiais precursores como Na₂O originado do fosfato de amônio dibásico ((NH₄)₂HPO₄) e óxido de hólmio e também óxido de lutécio originado do óxido de hólmio. A detecção de SiO₂ para as composições HoP₃, HoP₅ e HoP₆ também pode ser justificada por ser um contaminante advindo do fosfato de amônio dibásico ((NH₄)₂HPO₄). Estas impurezas não inviabilizam o uso do material vítreo para produção de microesferas porque após a irradiação com nêutrons, praticamente não são ativadas, pois possuem seção de choque muito pequena para captura de nêutrons e também o uso de precursores com alta pureza poderia eliminar as contaminações.

A comparação da composição nominal com a semi-quantitativa obtida por espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (TABS. 2 e 3 comparada à TAB. 7) sugere que poderia ocorrer a volatilização de P_2O_5 nas composições HoP₃, HoP₅, HoP₆ e HoP₇ (redução de 29%, 27%, 26% e 19%, respectivamente). Isso ocorreria devido à volatilidade deste componente, e também devido à alta higroscopicidade do material precursor (fosfato de amônio dibásico) que, apesar de ser pesado imediatamente após sair da estufa, poderia ainda estar hidratado durante o procedimento de pesagem alterando o valor nominal do precursor. A quantidade de óxido de hólmio também é inferior comparada com o valor nominal, provavelmente devido às impurezas contidas no material precursor utilizado (redução de 28%, 25%, 23% e 21%, respectivamente para os vidros HoP₃, HoP₅, HoP₆ e HoP₇). No entanto, o teor de óxido de alumínio aumentou em todas as composições distintas devido à interação do material precursor fundido com o cadinho de alumina (Al₂O₃). Para evitar essas interferências, as composições finais consideradas apropriadas para produção de nicroesferas poderiam ser produzidas utilizando cadinhos de sílica. Com relação ao óxido de lítio, o equipamento utilizado para determinação semi-quantitativa da composição química não possui sensibilidade para detectar esse componente e, portanto, foi fixada a massa nominal nos cálculos e foi considerado que não ocorria nenhuma volatilidade deste componente. O óxido de lutécio somente foi significativo na composição HoP₃, pois foi a composição com a maior quantidade de óxido de hólmio produzida e esta impureza é típica de elementos terras raras.

As composições MVP_2C_1 , MVP_4C_1 e MVP_5C_1 não apresentaram contaminações espúrias, mas foi notado um aumento no teor do SiO₂, indicando contaminação vinda do $(NH_4)_2HPO_4$, conforme constatado anteriormente. Houve redução do fosfato nas composições MVP_4C_1 (21%) e $MVP_5C_1(3\%)$, enquanto que um aumento na composição MVP_2C_1 (16%). Notável constatar que estas composições com alta quantidade de sílica, idealizadas para serem uma matriz de fosfato, podem ter se tornado uma matriz sílico- fosfato o que explicaria o aumento da durabilidade química, como será relatado posteriormente.

Apesar das significativas mudanças nas composições semi-quantitativas comparadas com as composições nominais, foi possível obter vidros fosfatos contendo hólmio potencialmente indicados para produção de microesferas de vidro que serão aplicadas na radioterapia interna seletiva.

4.3 Picnometria a gás He

Foi determinada a densidade dos materiais desenvolvidos utilizando-se a técnica de picnometria a gás He. Os resultados são mostrados na TAB. 8:

Vidro	Densidade (g/cm ³)
HoP ₃	2,95(4)
HoP ₅	2,99(6)
HoP ₆	2,92(4)
HoP ₇	3,453(12)
MVP_2C_1	3,101(21)
MVP_4C_1	2,476(11)
MVP ₅ C ₁	2,464(11)

TABELA 8: Densidade dos vidros obtidos para produção de microesferas.

Os resultados mostraram que para todos os vidros desenvolvidos, exceto o vidro HoP₇, as densidades determinadas são mais baixas quando comparadas com as das tradicionais microesferas contendo ítrio ($\rho = 3,29 \text{ g/cm}^3$). Estes resultados são bastante promissores, principalmente para as amostras MVP₄C₁ e MVP₅C₁, pois se aproximam mais da densidade ideal, a do plasma sanguíneo ($\rho = 1,0 \text{ g/cm}^3$) para que não haja deposição das microesferas antes da efetiva chegada às arteríolas que alimentam o tumor.

4.4 Calorimetria exploratória diferencial

As amostras foram analisadas termicamente visando encontrar a temperatura de transição vítrea (T_g) , que é um parâmetro importante para a escolha adequada da temperatura de processamento durante a produção de microesferas [6]. As curvas DSC são mostradas na FIG. 12.



FIGURA 12: Curvas de calorimetria exploratória diferencial dos vidros fosfatos

A TAB. 9 mostra as temperaturas de transição vítrea (T_g), as temperaturas de máxima cristalização (T_x) e o parâmetro de estabilidade térmica (ΔT) para as composições desenvolvidas.

TABELA 9: Temperaturas de transição vítrea e de máxima cristalização dos vidros fosfatos desenvolvidos para aplicação em radioterapia interna seletiva.

T_{g} (°C)	T_{x} (°C)	ΔT (°C)
510(1)	787(1)	277(1)
505(1)	707(1)	202(1)
510(1)	787(1)	277(1)
675(1)	-	-
675(1)	-	-
580(1)	-	-
580(1)	-	-
	T _g (°C) 510(1) 505(1) 510(1) 675(1) 675(1) 580(1) 580(1)	T_g (°C) T_x (°C)510(1)787(1)505(1)707(1)510(1)787(1)675(1)-675(1)-580(1)-580(1)-

A temperatura de transição vítrea na curva de calorimetria exploratória diferencial representa um evento endotérmico, caracterizado como uma mudança na linha base em forma de "joelho" (ponto de inflexão), ao qual a amostra passa por uma mudança no calor específico. Um evento endotérmico iniciando-se em aproximadamente 600 °C para as amostras HoP₃, HoP₅ e HoP₆ e acima de 700 °C para

as demais amostras, relacionado com o processo de sinterização por fluxo viscoso e retração do material no cadinho foi identificado [72]. A temperatura de máxima cristalização é a que ocorrerá a mais alta taxa de crescimento de cristais e é caracterizada por um pico exotérmico. As amostras HoP₇, MVP₂C₁, MVP₄C₁ e MVP₅C₁ não apresentaram temperatura de máxima cristalização, indicando que ou o vidro já está cristalizado (devitrificado), o que os resultados de difração de raios X não concordam, como será discutido posteriormente ou, o que é mais provável, a máxima cristalização ocorre em temperaturas superiores, e nesse caso, a fase vítrea seria bastante estável termicamente. Estas amostras que teriam maior parâmetro de estabilidade térmica ($\Delta T =$ $T_x - T_g$) possuem baixa probabilidade de ocorrência de cristalização quando submetidas ao processo de esferolização por chama ou por queda gravitacional, enquanto que aquelas em que foi possível obter o parâmetro de estabilidade térmica possuem propensão à cristalização. No processo de esferolização, durante o aquecimento e resfriamento do material vítreo, poderia ocorrer a cristalização parcial devido à baixa estabilidade térmica destas amostras, enquanto aquelas que possuem alto parâmetro de estabilidade tenderiam a não cristalizar. Em princípio, a presença de fases cristalinas não inviabiliza diretamente o uso das microesferas, porém testes de durabilidade química devem ser realizados. Em geral, a cristalização diminui a durabilidade química e pode gerar defeitos e tensões mecânicas inviabilizando o uso das microesferas produzidas.

4.5 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura permitiram verificar a forma do conjunto das microesferas produzidas a partir das composições consideradas promissoras. As micrografias são mostradas nas FIGS. 13 até 19:

a)



b)



FIGURA 13: Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição HoP₃.



FIGURA 14: Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição HoP_{5.}







FIGURA 16: Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição HoP₇.



FIGURA 17: Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição MVP₂C₁



FIGURA 18: Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição MVP₄C_{1.}



FIGURA 19: Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição MVP₅C_{1.}

As micrografias mostraram, em todos os casos, que foi possível obter, por meio do processo de esferolização, microesferas com forma adequada para as aplicações radioterapêuticas, sem arestas cortantes que prejudicariam o seu uso.

As composições HoP₃, HoP₆, HoP₅ e HoP₇ possuem regiões heterogêneas que provavelmente estão relacionadas com fases cristalinas e amorfas, enquanto as composições MVP_2C_1 , MVP_4C_1 e MVP_5C_1 parecem possuir composições homogêneas, provavelmente sem a presença de fases cristalinas.

4.6 Difração de raios X

As composições inicialmente vítreas foram analisadas por difração de raios X antes e após o processo de esferolização e os resultados são mostrados das FIGS. 20 até 26.



FIGURA 20: Difratogramas de raios X da composição HoP3 antes e após o processo de



FIGURA 21: Difratogramas de raios X da composição HoP₅ antes e após o processo de esferolização.



FIGURA 22: Difratogramas de raios X da composição Ho P_6 antes e após o processo de



FIGURA 23: Difratogramas de raios X da composição HoP7 antes e após o processo de

esferolização.



FIGURA 24: Difratogramas de raios X da composição MVP₂C₁ antes e após o processo de esferolização.



FIGURA 25: Difratogramas de raios X da composição MVP₄C₁ antes e após o processo de esferolização.



FIGURA 26: Difratogramas de raios X da composição MVP₅C₁ antes e após o processo de esferolização.

Antes do processo de esferolização, em todas as amostras, as partículas irregulares obtidas por moagem dos vidros desenvolvidos possuíam caráter amorfo, evidenciando o estado vítreo; porém, após o processo de esferolização ocorreu a cristalização parcial das microesferas, evidenciada pelo aparecimento de picos nos difratogramas apresentados nas FIGS. 20 a 23 e confirmando que as regiões heterogêneas encontradas nas micrografias das microesferas denominadas HoP₃, HoP₅, HoP₆ e HoP₇ são regiões amorfas e cristalinas. Estes resultados sugerem que estas amostras possuem baixa estabilidade térmica e baixo valor do parâmetro de Hruby

(parâmetro de estabilidade térmica definido como $K_H = (T_x - T_g) / (T_f - T_x)$, em que T_x é a temperatura de máxima cristalização, T_f é a temperatura de fusão e T_g é a temperatura de transição vítrea) e após lançadas na chama ou no forno tubular vertical e durante o resfriamento, ocorre a cristalização parcial. Os resultados de DSC confirmam esta análise. Este fato poderia ser prejudicial para a aplicação das microesferas porque materiais vítreos apresentam, em geral, durabilidade química superior às dos materiais cristalinos de mesma composição e a formação de regiões cristalinas poderia originar defeitos mecânicos nas microesferas, que seriam atacadas quimicamente quando imersas em fluidos, ocorrendo o desprendimento do radionuclídeo, e este poderia migrar para áreas saudáveis do corpo depositando dose, ou os cátions e ânions desprendidos poderiam interagir com o meio celular, causando toxicidade nos tecidos sadios.

As amostras MVP_2C_1 , MVP_4C_1 e MVP_5C_1 formaram microesferas totalmente vítreas conforme os difratogramas das FIGS. 24 a 26 e suas micrografias mostram superfícies homogêneas. Estas composições possuem alta estabilidade térmica e resistência à cristalização, o que poderia indicar uma durabilidade química adequada para aplicações radioterapêuticas, e com isso evitar o desprendimento do radionuclídeo para o meio celular.

4.7 Análise da durabilidade química

As superfícies das microesferas foram analisadas por MEV após 3, 6, e 10 dias mantidas em água destilada a 50 °C e as imagens obtidas são apresentadas das FIGS. 27 a 38.



FIGURA 27: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição HoP₇ após 3 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 28: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição HoP₇ após 6 dias em água destilada a 50 °C.











FIGURA 31: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP_2C_1 após 6 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 32: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP_2C_1 após 10 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 33: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP₄C₁ após 3 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 34: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP_4C_1 após 6 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 35: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP_4C_1 após 10 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 36: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP_5C_1 após 3 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 37: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP₅C₁ após 6 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 38: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas a) e b) composição MVP_5C_1 após 10 dias em água destilada a 50 °C.

As amostras de composições HoP₃, HoP₅, HoP₆ e HoP₇ apresentaram danos na superfície das microesferas após 3 dias de imersão em água destilada a 50 °C, conforme FIG. 27 (representante das composições do tipo HoP_x). Estas composições foram as que apresentaram o maior dano superficial na medida em que o tempo de imersão se prolongava. Esse proeminente ataque químico pode estar ligado às fases cristalinas presentes nas microesferas durante o processo de esferolização.

A amostra MVP_2C_1 também se mostrou pouco resistente após os 3 primeiros dias de imersão em água destilada a 50 °C e ao longo do tempo os danos tornaram-se mais pronunciados nas superfícies das microesferas, conforme FIGS. 30 a 32. Por isso decidiu-se descartar esta composição.

No entanto, as amostras de composição MVP_4C_1 e MVP_5C_1 mostraram-se bastante integras após os 3 primeiros dias de imersão, o que sugere que possuem uma durabilidade química alta quando comparada com as amostras anteriormente testadas. Depois de 6 dias de imersão (FIGS. 34 e 37) estas composições apresentaram a superfície com poucos danos e podem ser consideradas com alta durabilidade química. Após 10 dias de imersão os danos ainda foram pouco perceptíveis e pode-se considerar estas composições bastante promissoras para incorporação de óxido de hólmio e posterior produção de microesferas.

4.8 Testes de citotoxicidade dos vidros fosfatos

Os resultados do teste de citotoxicidade da amostra HoP₃ são mostrados na FIG. 39.



FIGURA 39: Viabilidade celular em função da concentração de extrato da amostra HoP₃.

Conforme resultados das análises anteriores (DSC, DRX, MEV, avaliação da durabilidade química) era esperado que as amostras com composição do tipo HoP_x (x = 3, 5, 6 e 7) fossem citotóxicas devido a baixa durabilidade química. Os resultados confirmam a previsão e é possível notar que para concentrações de extrato do material

acima de 75% é atingida a concentração inibitória $CI_{50\%}$ (concentração capaz de provocar a morte de mais de 50% das células analisadas). Estas composições de baixa durabilidade foram abandonadas.

4.9 Incorporação do óxido de hólmio

As amostras MVP_4C_1 e MVP_5C_1 mostraram-se com alta estabilidade térmica contra a cristalização e durabilidade química adequada para o tratamento pretendido, conforme análises térmicas e micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura, após ataques químicos em água destilada e, portanto foram selecionadas para incorporação do óxido de hólmio. Essa incorporação foi realizada conforme relatado em Materiais e Métodos no tópico 3.1.2 e as amostras foram denominadas MVP_4HoC_1 e MVP_5HoC_1 . Em trabalhos previamente reportados notou-se que a incorporação do óxido de hólmio melhorava as propriedades do vidro utilizado para produção de microesferas [6]. Após a produção do vidro não foram constatados indícios de cristalização e foram produzidas microesferas e investigadas suas propriedades. A análise química foi realizada por EDX e os resultados são apresentados na TAB. 10:

TABELA 10: Composição semi-quantitativa obtida por EDX dos vidros fosfatos contendo hólmio (mol%).

Vidro	P_2O_5	Ho ₂ O ₃ Sic	$O_2 Al_2O_3$	Lu ₂ O ₃	Na ₂ O
MVP ₄ HoC ₁	44,23 (26)	3,8(3) 38,0	01(22) 13,7(3)	0,454(12)	-
MVP5HoC1	39,12(13)	3,8(3) 32,2	2(4) 14,2(4)	0,402(10)	10,33(22)

As composições semi-quantitativas obtidas por espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva são próximas das composições nominais, mas houve contaminações advindas do óxido de hólmio, como a do óxido de lutécio. Também houve diminuição nas composições semi-quantitativas de sílica e de óxido de hólmio, porém aumento de fosfato e alumina. O aumento de fosfato e a diminuição da sílica sugerem que os vidros obtidos podem ser vidros silico-fosfatos e justifica sua alta durabilidade química e baixa higroscopicidade. As contaminações não inviabilizam a disponibilização do material para produção de microesferas, pois não

seriam produzidos radioisótopos indesejados durante o processo de ativação, devido à seção de choque para absorção de nêutrons dos contaminantes ser muito baixa e a meiavida radioativa desprezível.

As densidades destes vidros foram obtidas por picnometria a gás hélio e os resultados são mostrados na TAB. 11.

 TABELA 11: Densidade dos vidros obtidos para produção de microesferas.

 Vidro
 Densidade (g/cm³)

 MVP₄HoC₁
 2,72(3)

MVP₅HoC₁

	Os	resultados s	ão bastante	promissores,	pois	foram	menores	do	que	os	das
densidades	das	tradicionais	microesfera	as aluminossil	icato	conten	do ítrio.				

2,63(4)

As análises térmicas foram realizadas pela técnica de DSC. Na FIG. 40 é mostrada a curva de DSC para estas amostras.



FIGURA 40: Curvas de DSC das amostras MVP₄HoC₁ e MVP₅HoC₁.

Pode-se determinar a temperatura de transição vítrea para amostra MVP_4HoC_1 , $T_g \approx 715(1)$ °C, e para a amostra MVP_5HoC_1 , $T_g \approx 633(1)$ °C, mas não foi possível identificar a temperatura de máxima cristalização. Isto indica uma alta estabilidade térmica contra a cristalização destes vidros.

As microesferas foram produzidas pelo processo de esferolização por queda gravitacional e a morfologia e os aspectos superficiais foram analisados por microscopia eletrônica de varredura. As FIGS. 41 e 42 mostram as micrografias obtidas.



FIGURA 41: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição MVP₄HoC_{1.}



FIGURA 42: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microesferas produzidas pelo método da queda gravitacional a) e b) composição MVP₅HoC_{1.}

A forma das microesferas é considerada adequada, sem arestas e partículas disformes e defeitos na superfície. O método de esferolização utilizado mostrou-se eficiente para produção de microesferas com a composição proposta. Não foram identificadas regiões heterogêneas na superfície das microesferas.

A técnica de difração de raios X foi utilizada para confirmação de não ocorrência de cristalização após o processo de esferolização. As FIGS. 43 e 44 mostram os difratogramas.



FIGURA 43: Difratogramas de raios X da composição MVP₄HoC₁ antes e após o processo de esferolização.



FIGURA 44: Difratogramas de raios X da composição MVP₅HoC₁ antes e após o processo de esferolização.

Não há fases cristalinas após o processo de esferolização, indicando resistência à cristalização do material desenvolvido e sugerindo alta durabilidade química. Para confirmação da durabilidade química, as amostras foram colocadas em água destilada a 50 °C por 3, 6 e 10 dias, visando estudar a integridade superficial das microesferas. A superfície foi investigada por meio de micrografias obtidas por MEV, como mostrado nas FIGS. 45 a 50.



FIGURA 45: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_4HoC_1 após 3 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 46: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_4HoC_1 após 6 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 47: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_4HoC_1 após 10 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 48: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_5HoC_1 após 3 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 49: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_5HoC_1 após 6 dias em água destilada a 50 °C.



FIGURA 50: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_5HoC_1 após 10 dias em água destilada a 50 °C.
As microesferas com composições $MVP_4HoC_1 e MVP_5HoC_1$ mantiveram-se integras mesmo após 10 dias de exposição em água destilada, o que sugere uma durabilidade química adequada ao tratamento pretendido do material desenvolvido.

Foi também feita a avaliação da durabilidade química das microesferas em solução simuladora corpórea (SBF) e a superfície das mesmas foi avaliada por MEV após 3, 6 e 10 dias a 50 °C. As FIGS. 51 a 56 mostram as micrografias obtidas.



FIGURA 51: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₄HoC₁ após 3 dias em SBF a 50 °C.



FIGURA 52: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₄HoC₁ após 6 dias em SBF a 50 °C.



FIGURA 53: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₄HoC₁ após 10 dias em SBF a 50 °C.



FIGURA 54: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP_5HoC_1 após 3 dias em SBF a 50 °C.



FIGURA 55: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₅HoC₁ após 6 dias em SBF a 50 °C.



FIGURA 56: a) e b) Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₅HoC₁ após 10 dias em SBF a 50 °C.

Mesmo após 10 dias em SBF as microesferas mantiveram-se razoavelmente íntegras, o que indica uma alta durabilidade química e que este material é potencialmente indicado para o tratamento da radioembolização. As amostras MVP_4HoC_1 foram as que apresentaram melhor resultado.

4.10 Análise granulométrica

A distribuição do tamanho de partículas e o diâmetro médio das microesferas foram obtidos por espalhamento laser e os resultados são mostrados na FIG. 57.





FIGURA 57: Distribuição do tamanho de microesferas a) $MVP_4HoC_1 < \varphi > = 63 \ \mu m$; b) $MVP_5HoC_1 < \varphi > = 66 \ \mu m$.

Estes resultados mostram que as microesferas produzidas possuem distribuição de tamanho de partículas muito próxima da distribuição considerada apropriada para o tratamento; no entanto, faz se necessário o peneiramento na faixa adequada para a aplicação.

4.11 Avaliação dos danos superficiais após irradiação por nêutrons

As micrografias apresentadas nas FIGS. 58 e 59 foram obtidas após um período de mais de 10 meias-vidas radioativas do ³²P e quando a atividade da amostra passa a possuir valores próximos da radiação natural. A atividade remanescente deve-se à presença do ^{166m}Ho. Este radioisótopo metaestável resulta da absorção de nêutrons pelo ¹⁶⁵Ho e possui baixa seção de choque de absorção de nêutrons. Embora a meia-vida do ^{166m}Ho seja longa (t_{1/2}=1200 a), a atividade devida à presença deste radioisótopo não inviabiliza a utilização das microesferas para radioterapia interna seletiva, pois apresenta intensidade com a mesma ordem de grandeza que a da radiação natural ambiente.



FIGURA 58: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₄HoC₁ após a ativação.



FIGURA 59: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da superfície das microesferas de composição MVP₅HoC₁ após a ativação.

Não houve danos pelo feixe de nêutrons na superfície das microesferas, durante o processo de ativação e nem devido à radiação de decaimento dos radionuclídeos produzidos (hólmio e fósforo) durante esse tempo de mais de dez meiasvidas do fósforo. Isto indica uma resistência à radiólise dos vidros desenvolvidos, e mostra que as microesferas desenvolvidas possuem alta potencialidade para a aplicação terapêutica.

4.12 Teste de citotoxicidade das composições MVP₄HoC₁ e MVP₅HoC₁

Foi realizado o teste de citotoxicidade para as amostras MVP_4HoC_1 e MVP_5HoC_1 . Os resultados são apresentados na FIG. 60:



FIGURA 60: Viabilidade celular em função da concentração do extrato do material constituído pelas microesferas.

Para as amostras analisadas, mesmo considerando concentrações do extrato de 100%, os valores da viabilidade celular mantiveram-se muito acima dos valores da concentração inibitória CI_{50%}. O material desenvolvido foi considerado não citotóxico, permitindo, portanto a realização de testes "in vivo".

5. CONCLUSÃO

Foram desenvolvidas novas composições e produzidas microesferas de vidros fosfatos pelos processos da chama e da queda gravitacional. As microesferas de composições MVP_4HoC_1 e MVP_5HoC_1 foram consideradas potencialmente indicadas para o tratamento de radioterapia interna seletiva, pois possuem:

- Forma e tamanho médio adequados para o tratamento;

- Alta estabilidade térmica contra a cristalização, demonstrada por meio das análises de calorimetria exploratória diferencial e difração de raios X;

- Densidade de 2,7(3) g/cm³ e 2,6(4) g/cm³ respectivamente, menores que das comerciais microesferas de aluminossilicato contendo ítrio;

- Durabilidade química adequada em que não se observou muitos danos na sua superfície, mesmo após 10 dias imersas em água destilada e em fluido simulante corpóreo a 50 °C;

Além disso:

- Não são citotóxicas;

- São economicamente vantajosas quando comparadas às microesferas de aluminossilicato e polimérica contendo ítrio; e

- As impurezas presentes nas composições dos vidros não inviabilizam o uso das microesferas, pois possuem baixa seção de choque para absorção de nêutrons térmicos.

Propõem-se testes "in vivo" das microesferas visando sua aplicação em radioterapia interna seletiva.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Human Health Series n. 10, "Trends and Practices in Diagnosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma", IAEA, Viena, Austria (2010) 1.

[2] K. M. MacMaster, J. N. Vauthey, "Hepatocellular Carcinoma-Targeted Therapy and Multidisciplinary Care", Springer, ISBN 978-1-60327-521-7 (2010) 1.

[3] J. R Pimenta, P. S. Massabki, "Carcinoma hepatocelular: um panorama clínico", Rev. Bras. Clínica Médica 8 (2010) 59.

[4] R. F. Costa, M. B. M. Azevedo, N. Nascimento, F. F. Sene, J. R. Martinelli, J. A. Osso, "Production of microsphere labeled with holmium-166 for liver cancer therapy: the preliminary experience at IPEN/CNEN", Anais INAC (2009).

[5] L. L. Hench, D. E. Day, W. Holand, V. M. Rheinberger, "Glass and Medicine", Int. J. Appl. Glass Sci. 1 (2010) 104.

[6] E. C. Barros F^o, "Estudo do processo de esferolização de partículas vítreas visando à aplicação em radioterapia interna seletiva", Diss. Mestrado, IPEN/USP (2012).

[7] N. Gary, C. Gamblin, "90-Yttrium microsphere radioembolization in the treatment of primary and metastatic liver tumors", US Gastroenterology 26 (2008) 36.

[8] E. Garin, Y. Rolland, E. Boucher, V. Ardisson, S. Laffont, K. Boudjema, P. Bourguet, J. L. Raoul, "First experience of hepatic radioembolization using microspheres labelled with yttrium-90 (TheraSphere): practical aspects concerning its implementation", Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 37 (2010) 453.

[9] L. Mo, B. Avci, D. James, B. Simpson, M. Van Wyngaardt, J. T. Cessna, C. Baldock, "Development of activity standard for 90Y microspheres", Appl. Rad. Isotopes 63 (2005) 193.

[10] J. F. W. Nijsen, M. J. van Steenbergen, H. Kooijman, H. Talsma, L. M. J. Kroon-Batenburg, M. van de Weert, P. P. van Rijk, A. de Witte, A. D. van het Schip, W. E. Hennink, "Characterization of poly(L-lactic acid) microspheres loaded with holmium acetylacetonate", Biomater. 22 (2001) 3073.

[11] T. Das, S. Chakraborty, H. D. Sarma, M. Venkatesh, S. Banerjee, "Preparation of 166Ho-oxine-lipiodol and its preliminary bioevaluation for the potential application in therapy of liver cancer", Nuclear Medicine Comm. 30 (2009) 362.

[12] M. A. D. Vente, J. F. W. Nijsen, R. de Roos, M. J. van Steenbergen, C. N. J. Kaaijk, M. J. J. Koster-Ammerlaan, P. F. A. de Leege, W. E. Hennink, A. D. van het Schip, G. C. Krijger, "Neutron activation of holmium poly(L-lactic acid) microspheres for hepatic arterial radioembolization: a validation study", Biomed. Microdevices 11 (2009) 763.

[13] M. L. J. Smits, J. F. W. Nijsen, M. A. A. J. van den Bosch, M. G. E. H. Lam, M. A. D. Vente, J. E. Huijbregts, A. D. van het Schip, M. Elschot, W. Bult, H. W. A. M. de Jong, P. C. W. Meulenhoff, B. A. Zonnenberg, "Holmium-166 radioembolization for the treatment of patients with liver metastases : design of the phase I HEPAR trial", J. Exp. Clin. Cancer Res. 70 (2010) 29.

[14] F. F. Sene, J. R. Martinelli, E. Okuno, "Synthesis and characterization of phosphate glass microspheres for radiotherapy application", Anais INAC (2007).

[15] J. W. Lafave, L. Grotenhuis, Y. S. Kim, L. D. Maclean, J. F. Jr. Perry, "Y90-tagged microspheres in adjuvant tumor theraphy", Surgery 53 (1963) 778.

[16] R. Salem, R. Hunter, "Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma: a review", Int. J. Rad. Oncology Biol. Phys. 16 (2006) 1571.

[17] T. R. Nolan, E. D. Grady, "Intravascular particulate radioisotope therapy; clinical observations of 76 patients with advanced cancer treated with 90-yttrium particles", Am. Surg. 35 (1969) 181.

[18] R. V. Mantravadi, D. G. Spigos, W. S. Tan, E. L. Felix, "Intraarterial yttrium 90 in the treatment of hepatic malignancy", Radiology 142 (1982) 783.

[19] N. Simon, "Intra-Arterial Irradiation", Bull. New York Acad. Medicine 4 (1969) 358.

[20] A. S. Kennedy, "Intraarterial Yttrium 90 microspheres for hepatic malignancies", Am. Soc. Clin. Oncology – Educational Book (2009) 251.

[21] D. M. Liu, R. Salem, J. T. Bui, A. Courteney, O. Barakat, Z. Sergei, B. Atassi, K. Barrett, P. Gowland, B. Oman, R. J. Lewandowski, V. L. Gates, K. G. Thurston, C. Y. Wong, "Angiografic considerations in patients undergoing liver – directed Therapy", Review Article, J. Vasc. Interv. Radiol. 7 (2005) 911.

[22] H. Poorbaygi, S. M. R. Aghamiri, S. Sheibani, A. Kamali-asl, E. Mohagheghpoor, "Production of glass microspheres comprising ⁹⁰Y and ¹⁷⁷Lu for treating of hepatic tumors with SPECT imaging capabilities", Appl. Rad. Isotopes 69 (2011) 1407.

[23] M. W. Barentsz, M. A. D. Vente, M. G. E. H. Lam, M. L. J. Smiths, J. F. W. Nijsen, B. A. Seinstra, C. E. N. M. Rosenbaum, H. M. Verkooijen, B. A. Zoonerberg, M. A. A. Van den Bosch, "Technical solutions to ensure safe yttrium 90 radioembolization in patients with inicial extrahepatic deposition of technetium albumin macroaggregates", Cardiovasc. Intervent. Radiol. 34 (2011) 1074.

[24] C. C. Guimarães, M. Moralles, J. R. Martinelli, "Monte Carlo simulation of liver cancer treatment with ¹⁶⁶Ho loaded glass microspheres", Rad. Phys. Chem. 95 (2013) 185.

[25] Y. Nagata, N. Araki, K. Fujiwara, "Evaluation of glass microspheres for intraarterial radiotherapy in animal kidneys", Int. J. Rad. Oncology Biol. Phys. 49 (2001) 453.

[26] U. O. Hafeli, W. K. Roberts, G. J. Pauer, S. K. Kraeft, R. M. Macklis, "Stability of biodegradable radioactive rhenium microspheres after neutron activation", Appl. Rad. Isotopes 54 (2001) 869.

[27] R. Salem, L. Kulik, R. Murthy, "Radioembolization with Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma and liver metastases", US Gastroenterology Rev. 30 (2007) 571.

[28] B. L. Rhodes, S. Legvolg, F. H. Spedding, "Magnetic properties of Holmium and Thulium metals", Phys. Rev. 109 (1957) 1547.

[29] T. Das, S. Chakraborty, H. D Sarma., M. Venkatesh, S. Banerjee, "Preparation of ¹⁶⁶Ho oxine lipiodol and its preliminary bioevaluation for the potential application in therapy of liver cancer", Nuclear Medicine Comm. 30 (2009) 362.

[30] J. F. W. Nijsen, J. H. Seppenwoolde, T. Havenith, C. Bos, C. J. G. Bakker, A. D. V. H. Schip, "Liver Tumors: MR Imaging of radioactive holmium microsphere, Phantom and rabbit study", Radiology 231 (2004) 491.

[31] M. A. D. Vente, T. C. de Wit, M. A. A. J. van den Bosch, W. Bult, P. R. Seevinck, B. A. Zonnenberg, H. W. A. M. de Jong, G. C. Krijger, C. J. G. Bakker, A. D. van het Schip, J. F. W. Nijsen, "Holmium-166 poly (L-lactic acid) microsphere radioembolization of the liver: technical aspects studied in a large animal model", Eur. Radiol. 20 (2010) 862.

[32] M. L. J. Smits, J. F. W. Nijsen, M. A. A. J. van den Bosch, M. G. E. H. Lam, Vente, B. A. Zonnenberg, W. P. T. M. Mali, A. D. V. H. Ship, "Holmium-166 radioembolisation in patients with unresectable, chemorefractory liver metastases (HEPAR trial): a phase 1, dose-escalation study", Lance Oncology 10 (2012) 1025.

[33] <u>www.astm.org</u> acessado em 21/05/2014.

[34] J. E. Shelby, "Introduction to glass science and technology", 2nd Ed., The Royal Society of Chemistry, (1997).

[35] H. Vieira, "Avaliação da cristalização e durabilidade química de vidros niobofosfatos visando à imobilização de rejeitos radioativos", Diss. Mestrado, IPEN/USP (2008).

[36] J. Zarzycki, "Glasses and the vitreous state", Cambridge University Press (1982).

[37] S. R. Elliot, "Physics of amorphous materials", Logman Sci. & Tech. (1983).

[38] R. Zallen, "The Physics of Amorphous Solids", Wiley-VCH (1983).

[39] A. K. Varshneya, "Fundamentals of inorganic glasses", Acad. Press, Inc (1994).

[40] J. M. F. Navarro, "El Vidrio", CSIC, Espanha (1991).

[41] F. F. Sene, "Síntese e caracterização de vidros niobofosfatos de bário e potássio para aplicações como matriz hospedeira de íons terras-raras", Tese de Doutorado, IPEN/USP (2002).

[42] W. H. Zachariasen, "The Atomic Arrangement in Glass", Ryerson Phys. Lab. 54 (1932) 3841.

[43] L. Ghussn, "Síntese e caracterização de vidros niobofosfatos e ferrofosfatos utilizados como meio para imobilização de U_3O_8 ", Tese de Doutorado, IPEN/USP (2005).

[44] R. K. Brow, "Review: the structure of simple phosphate glasses", J. non Crystalline Solids 263-264 (2000) 1.

[45] J. R. Jones, A. G. Clare, "Bio-Glasses: an introduction", John Wiley and Sons (2012).

[46] H. Franz, "Durability and corrosion of silicate glass surfaces", J. non Crystalline Solids 42 (1980) 529.

[47] S. T. Reis, "Durabilidade química de vidros sinterizados à base de fosfato de ferro e chumbo", Tese de Doutorado, IPEN/USP (1999).

[48] M. G. Stabin, "Radiation Protection and Dosimetry: an introduction to health physics", Springer (2008).

[49] E. Okuno, E. Yoshimura, "Física das Radiações", Oficina de Textos (2010).

[50] E. Yoshimura, "Física das radiações: interação da radiação com a matéria", Rev.Bras. Fis. Médica 3 (2009) 57.

[51] R. Eisberg, R. Resnick, "Física Quântica: átomos, moléculas, sólidos, núcleos e partículas", Campus (1988).

[52] R. P. Feynman, "Notas de aula de Física Nuclear Teórica" redigidas por G. Rawitscher, Livraria da Física, S. Paulo, SP (2005).

[53] J. Magill, J. Galy, "Radioactivity Radionuclides Radiation", Springer (2005).

[53] T. M. Kuckuk, "Física Nuclear: Uma introdução", Fund. Calouste Gulbenkian, Portugal (1984).

[55] I. Kaplan, "Física Nuclear", Koogan S.A. (1962).

[56] E. B. Podgorsak, "Radiation Physics for Medical Physicists", Springer (2006).

[57] T. Bitelli, "Dosimetria e higiene das radiações", Grêmio Politécnico, S.Paulo. SP (1982).

[58] M. Karabulut, E. Metwalli, R. K. Brow, "Structure and properties of lanthanum – aluminum – phosphate glasses", J. non Crystalline Solids 283 (2001) 211.

[59] J. H. Campbell, T. I. Suratwala, "Nd-doped phosphate glasses for high energy/high peak power lasers", J. non Crystalline Solids 263 (2000) 318.

[60] R. A. Martin, P. S. Salmon, D. L. Carroll, M. E. Smith, A. C. Hannon, "Structural and thermal properties of yttrium alumino-phosphate glasses", J. Phys. Condensed Matter 20 (2008) 11.

[61] S. M. Hsu, J. J. Wu, S. W. Yung, T. S. Chin, T. Zhang, Y. M. Lee, C. M. Chu, J. Y. Ding, "Evaluation of chemical durability, thermal properties and structure characteristics of Nb–Sr-phosphate glasses by Raman and NMR spectroscopy", J. non Crystalline Solids 358 (2012) 14.

[62] P. A. Bingham, R. J. Hand, O. M. Hannant, S. D. Forder, S. H. Kilcoyne, "Effects of modifier additions on the thermal properties, chemical durability, oxidation state and structure of iron phosphate glasses", J. non Crystalline Solids 355 (2009) 1526.

[63] M. Kawashita, N. Matsui, Z. Li, T. Miyazaki, H. Kanetaka, "Preparation, structure, and in vitro chemical durability of yttrium phosphate microspheres for intra-arterial radiotherapy", Society for Biomaterials 99 (2011) 45.

[64] P. Y. Shih, "Preparation of lead-free phosphate glasses with low *T*g and excellent chemical durability", J. Mater. Sci. Lett. 20 (2001)1811.

[65] C. E. Smith, R. K. Brow, L. Montagne, B. Revel, "The structure and properties of zinc aluminophosphate glasses", J. non Crystalline Solids 386 (2014) 105.

[66] R. K. Brow, C. A. Click, T. M. Alam, "Modifier coordination and phosphate glass networks", J. non Crystalline Solids 274 (2000) 9.

[67] E. Metwalli, R. K. Brow, "Modifier effects on the properties and structure of aluminophosphate glasses", J. non Crystalline Solids 289 (2001) 113.

[68] R. Conradt, "Chemical durability of oxide glasses in aqueous solutions: a review", J. Am. Ceram. Soc. 91 (2008) 728.

[69] R. G. Iacocca, N. Toltl, M. Allgeier, B. Bustard, X. Dong, M. Foubert, J. Hofer, S. Peoples, T. Shelbourn, "Factors affecting the chemical durability of glass used in the pharmaceutical industry", Pharm. Sci. Tech. 11 (2010) 1340.

[70] C. A. Utton, S.W. Swanton, J. Schofield, R. J. Hand, A. A. Clacher, N. C. Hyatt, "Chemical durability of vitrified wasteforms: effects of pH and solution composition", Mineral. Mag. 76 (2012) 2919.

[71] E. Hecht, "Optics" 4th Ed., Pearson Addison Wesley (2002).

[72] J. P. de Souza, "Estudo da sinterização de vidros aluminossilicatos por calorimetria exploratória diferencial", Diss. Mestrado, IPEN/USP (2015).