

NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA FUNCIONALIZADAS COM PVA E COLÁGENO CONTENDO ¹⁵⁹Gd COMO UM POTENCIAL AGENTE DE TRATAMENTO PARA OSTEOSSARCOMA

Cipreste, M. F.; Sousa, E. M. B.

Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear

Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Campus UFMG – sousaem@cdtn.br

RESUMO

Sistemas nanoestruturados carreadores de radioisótopos apresentam um potencial promissor para o tratamento dos osteossarcomas, permitindo o emprego mais seletivo das radiações em células tumorais. No presente trabalho, foi preparado um sistema híbrido constituído por nanopartículas mesoporosas de hidroxiapatita funcionalizadas com colágeno e álcool polivinílico, contendo radioisótopo gadolínio-159 com potencial aplicação como terapia alternativa para tratamento do câncer. Os materiais preparados foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), adsorção de gases (BET), microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise elementar de CHN, análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia de correlação de fótons (PCS) e espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES). Os resultados indicaram que hidroxiapatita mesoporosa foi sintetizada com sucesso, que o processo de funcionalização foi bem sucedido e que é possível incorporar e reter o radioisótopo gadolínio-159 nesse sistema, credenciando o material para os estudos biológicos.

Palavras-chave: nanopartículas de hidroxiapatita, colágeno, poli (álcool vinílico), gadolínio, osteossarcomas.

INTRODUÇÃO

O osteossarcoma é o tipo mais comum entre os tumores ósseos malignos primários, atingindo principalmente crianças, adolescentes e adultos jovens¹. O tratamento padrão, empregado em osteossarcomas é feito através da aplicação de um agente neoadjuvante quimioterápico seguido de ressecção cirúrgica³⁻⁷. Apesar do sucesso da quimioterapia para o tratamento de osteossarcomas, observa-se uma das mais baixas taxas de sobrevivência para câncer pediátrico. A cirurgia é utilizada para remover o tumor primário, mas em alguns casos, devido à posição ou o tamanho do tumor, a cirurgia pode envolver a remoção de todo o membro⁸. A radioterapia convencional é utilizada ocasionalmente em situações especiais, onde

ocorre a impossibilidade de remover todo o tumor cirurgicamente. Devido à baixa sensibilidade dos osteossarcomas à radiação ionizante, este tipo de tratamento não é utilizado com muita frequência, podendo ser recomendada apenas para o tratamento pós-cirúrgico com o objetivo de destruir possíveis células residuais após a remoção do tumor⁹.

Os sistemas nanoestruturados possuem propriedades únicas que permitem a acumulação espontânea em tecidos tumorais^{10,11}, podendo atuar como carreadores estáveis para radionuclídeos e radiofármacos. Os nanomateriais possuem um potencial promissor para o tratamento dos osteossarcomas, permitindo o emprego mais seletivo das radiações em células tumorais e podendo aumentar a radiosensibilidade desses tumores devido à proximidade que podem manter entre os radioisótopos e as células tumorais.

Nanoestruturas de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) são exploradas em pesquisas biológicas por apresentarem biocompatibilidade, bioatividade e semelhança com a composição mineral dos tecidos ósseos¹². O pequeno tamanho do cristalito desses nanomateriais é um importante fator que está relacionado com suas propriedades biológicas e estruturais, como atividade superficial e baixa solubilidade¹³. Alguns estudos mostram que o processo de funcionalização de superfícies de hidroxiapatita com colágeno melhora a aderência desse material em células de tecidos ósseos¹⁴. No entanto, os biocompósitos sintéticos de colágeno e hidroxiapatita sozinhos não possuem as propriedades mecânicas adequadas para proporcionar a estabilidade necessária em aplicações biomédicas. Este comportamento pode ser otimizado com a utilização de ligantes poliméricos tal como poli (álcool vinílico) (PVA), que formam uma interface entre os materiais e melhoraram suas propriedades mecânicas, promovendo maior durabilidade para esses sistemas¹⁵.

O gadolínio-159 é um radioisótopo emissor beta ($E_{\text{max}} \cong 1 \text{ MeV}$) e gama (363 keV) com meia-vida de 18 horas que, encapsulado por nanopartículas, pode ser utilizado tanto para tratamento quanto para o diagnóstico do câncer, como encontrado na literatura^{18,19}.

Neste trabalho, foi sintetizado um sistema híbrido constituído por nanopartículas mesoporosas de hidroxiapatita funcionalizadas com PVA e colágeno, sendo estudado o potencial de incorporação e a capacidade de retenção de gadolínio-159.

MATERIAIS E MÉTODOS

Síntese de HA pelo método hidrotermal

Nanopartículas de hidroxiapatita mesoporosas foram sintetizadas através do método hidrotermal com a utilização de um surfactante catiônico que atua como direcionador da rede de HA. A síntese de HA começou com a preparação de uma solução (i) de nitrato de cálcio, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Dinâmica Química), em água Milli-Q® com concentração de 0,167 M de cálcio. A solução (ii) foi preparada com a completa dissolução de 2 g de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB), $\text{C}_{14}\text{H}_{42}\text{N} \cdot \text{Br}$ (Sigma-Aldrich), em 150 mL de água Milli-Q® e a adição de monohidrogênio fosfato de dipotássio, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), a uma concentração de 0,1 M de potássio. O pH da solução foi ajustado para 12 com a adição de NaOH 2,5 M, antes e durante o lento gotejamento da solução (i). Após o processo de adição com a manutenção da temperatura em 50 °C, a solução resultante foi envelhecida à temperatura ambiente durante 14 horas e, sofreu um tratamento hidrotérmico a 100 °C durante 10 horas. Em seguida, a solução foi filtrada e lavada com água Milli-Q® e etanol. O material filtrado e seco foi calcinado durante 6 horas a 550 °C para promover a remoção do surfactante, obtendo-se um fino pó branco.

Funcionalização da matriz de HA com PVA e colágeno

Inicialmente, foi preparada uma solução com 7,3 % p/p de PVA em água Milli-Q® sobre agitação vigorosa com temperatura de 90 °C durante 6 horas. Em seguida, 450 mg de HA foram adicionados a 30 mL da solução de PVA e esse sistema foi mantido sobre agitação com temperatura de 60 °C durante 4 horas. Em seguida, 600 mg de colágeno foram adicionados a 20 mL da solução de PVA/HA e esse sistema foi mantido sobre agitação à temperatura ambiente durante 5 horas. A solução final foi centrifugada e o pó separado nesse processo foi secado durante 24 horas em estufa a 40°C, preservando assim a estrutura do colágeno.

Estudo do potencial de incorporação e capacidade de retenção de gadolínio

Foram preparadas duas formulações, sendo uma contendo óxido de gadolínio com o isótopo estável e a matriz nanoestruturada de hidroxiapatita e a outra

contendo o sistema híbrido funcionalizado com a razão em peso de 1:3 (Gd:HA e Gd:PVA/COL/HA). Estas formulações foram mantidas sobre agitação à temperatura ambiente durante 24 horas. Em seguida, cada solução foi filtrada através do sistema *swinex* com a utilização de membranas de poros com diâmetros de 100 nm (Millipore). Os líquidos foram analisados pelo método de espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado utilizando-se o equipamento Spectroflame (Spectro Analytical Instruments, Alemanha) para se determinar o teor de gadolínio incorporado no sistema. As amostras retidas nas membranas foram utilizadas para avaliar a capacidade de retenção do isótopo incorporado nos sistemas estudados. As nanoestruturas contendo gadolínio foram imersas em solução de SBF a temperatura de 37°C em intervalos de tempo determinados (12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). Após cada intervalo de tempo, as amostras foram filtradas utilizando o sistema *swinex* descrito acima, e avaliadas por ICP-AES quanto aos teores de gadolínio liberados a partir das nanopartículas de HA e de PVA/COL/HA.

Caracterização físico-química e morfológica das amostras

As amostras sintetizadas foram caracterizadas pelas técnicas de difração de raios X, utilizando-se um equipamento TTRAX III (Rigaku Inc., Japão); espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier em pastilhas de KBr, com um espectrômetro Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA); análise por adsorção de gases, utilizando-se o equipamento Autosorb iQ (Quantachrome, EUA); análise termogravimétrica realizada no equipamento DTG-60H (Shimadzu, Japão); análise elementar de CHN com o equipamento EA 2400 CHNS/O (Perkin Elmer, USA) e pela microscopia eletrônica de transmissão com o equipamento Tecnai G2-12 Spirit Biotwin (FEI Company, Japão), do Centro de Microscopia da UFMG.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Difração de raios X (DRX)

A Figura 1 mostra um comparativo entre os difratogramas do sistema PVA/COL/HA (a), da HA (b) e do PVA (c). Pela análise do gráfico, é possível perceber que a amostra de hidroxiapatita sintetizada apresentou elevado grau de pureza e todas as fases desse fosfato de cálcio estão presentes nesse material, em conformidade com a literatura²²⁻²⁴ Pode-se observar que o poli (álcool vinílico) e o

colágeno não deslocam os picos de difração característicos da hidroxiapatita e não distorcem a estrutura cristalográfica desse material, indicando que o sistema híbrido mantém as propriedades estruturais da fase HA, favorecendo a aplicação proposta para o material do presente trabalho. Entretanto, pode-se observar a presença de um novo pico de difração na amostra híbrida no ângulo 2θ de $9,42^\circ$ (seta na Figura 1) que pode indicar um processo de funcionalização bem sucedido com PVA. Uma hipótese para o surgimento desse novo pico é a formação de uma ligação entre o poli (álcool vinílico) e o colágeno, resultando em uma nova fase cristalina, como sugerido na literatura^{25,26}.

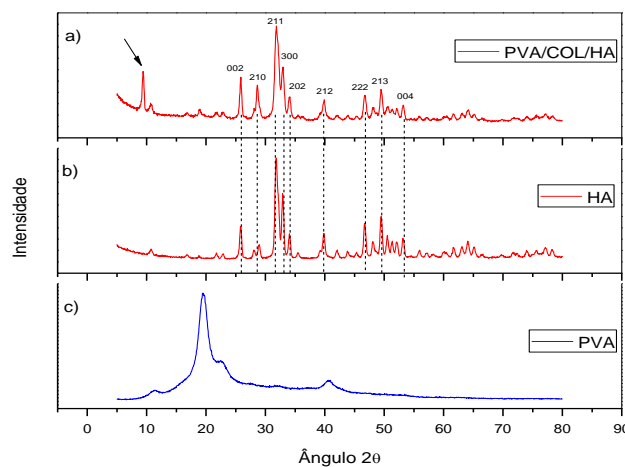


Figura 1- Difrátograma comparativo entre a amostra de HA pura, do PVA puro e do sistema híbrido PVA/COL/HA.

Espectroscopia na Região de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

O processo de funcionalização foi avaliado através de FTIR das amostras HA, PVA, colágeno e do sistema híbrido PVA/COL/HA, como mostrado na Figuras 2. O espectro do colágeno (Figura 2 (b)) mostra bandas de absorção para amina I (C=O) em 1660 cm^{-1} e os grupos de amina II e III, em 1449 , 1388 e 1239 cm^{-1} ; o pico em 1529 cm^{-1} está associado com o alongamento da ligação C-N de aminas I e II¹⁵. Os picos do colágeno puro são repetidos no espectro de FTIR do sistema híbrido PVA/COL/HA e não são encontrados no espectro da HA pura (Figura 2 (d) e (c) respectivamente), indicando que o processo de funcionalização foi bem sucedido. A Figura 2 (a) mostra a presença de picos de absorção a 869 , 663 e 420 cm^{-1} para o PVA. Comparando-se os espectros de FTIR em escala expandida (Figura 2 (e) e (f))

pode ser observado que alguns modos vibracionais característicos, em 3676, 668, 451 e 424 cm^{-1} , presentes no PVA e no colágeno, são observados também na amostra PVA/COL/HA em intensidades mais baixas e não são observados na hidroxiapatita pura, fornecendo um novo indicativo de que o processo de funcionalização foi bem sucedido tanto para o PVA quanto para o colágeno. No entanto, não foram observadas todas as vibrações características dos grupos funcionalizantes, porque alguns modos de vibração do PVA puro e do Colágeno puro ocorreram no mesmo intervalo dos modos vibracionais da HA.

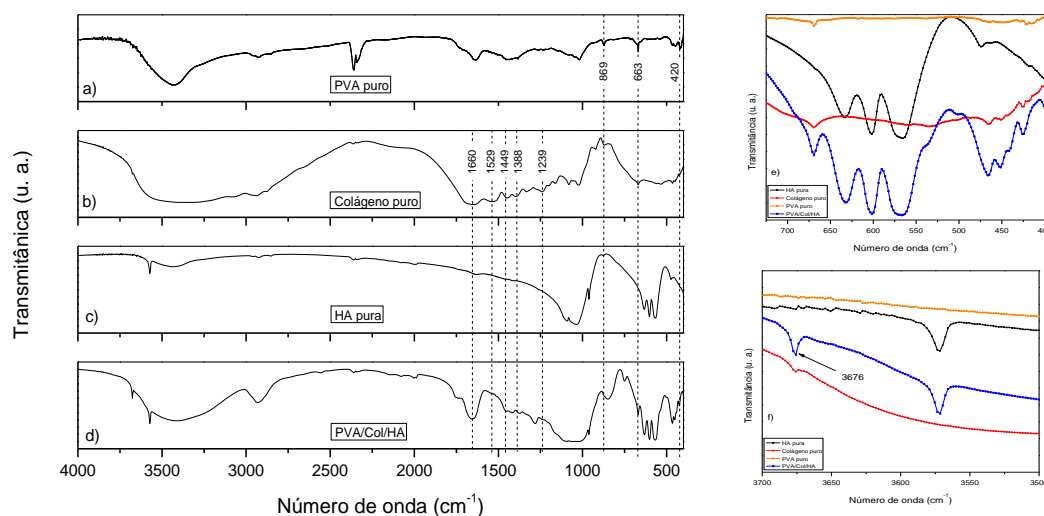


Figura 2- Espectros de FTIR comparativos entre a amostra de HA pura, do PVA puro e do sistema híbrido PVA/COL/HA.

Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

Os resultados da análise de CHN estão representados na Tabela 1. A hidroxiapatita não apresenta os elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio em sua estrutura. Entretanto, o espectro de FTIR da amostra de HA revelou a presença de íons carbonato na estrutura sintetizada, que pode ser confirmado pela análise de CHN em valores muito baixos de carbono (0,538%). Ainda, estes valores podem estar relacionados com a presença de surfactante residual, conforme resultados anteriores. O poli (álcool vinílico) apresenta a relação de 1:2 de átomos de carbono para átomos de hidrogênio em seu monômero; a análise de CHN confirma a presença desse material no sistema funcionalizado PVA/HA, observando os aumentos nos percentuais de carbono e hidrogênio nessa amostra em relação à

amostra de HA pura (0,538% para 4,662% de carbono e 0 para 0,909% de hidrogênio). O colágeno é uma proteína que apresenta carbono, hidrogênio e nitrogênio em sua estrutura e, com base nessa informação, pode-se inferir que o processo de funcionalização foi bem sucedido tanto para o colágeno quanto para o PVA quando comparamos os percentuais desses elementos entre as três amostras, já que o percentual de carbono sobe de 0,538% na amostra de HA e 4,662% na amostra de PVA/HA para 10,866% na amostra PVA/COL/HA, o percentual de hidrogênio sobe de valores nulos em HA e 0,909% em PVA/HA para 1,853% em PVA/COL/HA e, principalmente no caso da introdução do colágeno na estrutura, um percentual de nitrogênio que só pode ser observado no sistema PVA/COL/HA (1,280%).

Tabela 1- Resultados da análise elementar de CHN

Amostra	Percentual de Carbono	ΔC	Percentual de Hidrogênio	ΔH	Percentual de Nitrogênio
HA	0,538 \pm 0,001	-	0*	-	0*
PVA/HA	4,662 \pm 0,132	4,124	0,909 \pm 0,049	0,909	0*
PVA/COL/H A	10,866 \pm 0,132	6,204	1,853 \pm 0,031	0,904	1,280 \pm 0,084

* Leituras abaixo do limite de detecção do equipamento (0,3%) são consideradas valores nulos.

Análise termogravimétrica (TGA)

A Figura 3 mostra os resultados da análise termogravimétrica e suas derivadas para amostras de HA, PVA/HA e PVA/COL/HA. A hidroxiapatita apresenta uma estrutura termicamente estável que pode ser confirmada por essa análise. Como materiais orgânicos poliméricos, o colágeno e o PVA são degradados quando submetidos a temperaturas na faixa de 200 a 750 °C e 210 a 540 °C, respectivamente ²⁷. Observando o comportamento dos sistemas PVA/HA e PVA/COL/HA, podem-se perceber significativas perdas de massa dentro da faixa de degradação dos polímeros. As perdas iniciais até a temperatura de 150 °C podem ser atribuídas à saída de moléculas de água fracamente ligadas às estruturas por fisissorção. O sistema funcionalizado apenas com o poli (álcool vinílico) apresentou menor perda de massa do que o sistema funcionalizado com as duas substâncias, como pode ser observado através das derivadas que confirmam a existência e a diferença entre essas perdas de massa pela diferença de intensidade entre os picos

em torno de 200°C e 300°C respectivamente. Como o colágeno foi acrescentado posteriormente ao sistema, esse resultado fornece um novo indicativo de que o processo de funcionalização foi bem sucedido para tanto para o PVA quanto para o colágeno.

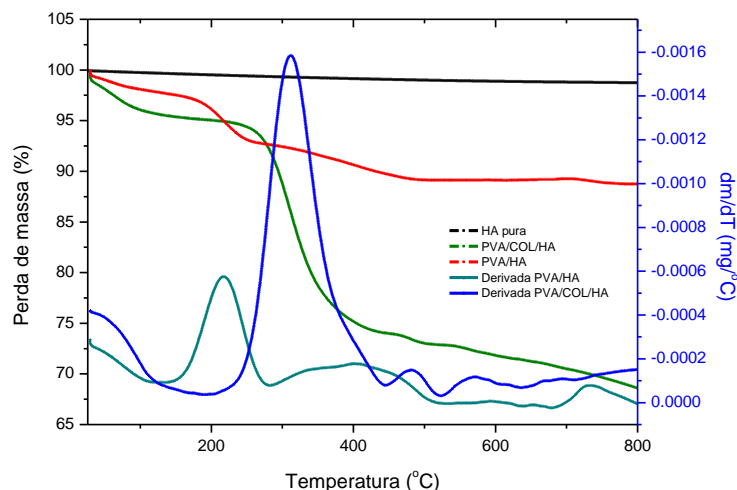


Figura 3- Curvas de TGA e DTG das amostras de HA e dos sistemas híbridos PVA/HA e PVA/COL/HA.

Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A Figura 5 (a) mostra uma imagem de MET para a amostra de HA, onde podem ser observadas nanopartículas porosas em forma de bastão em perfeito acordo com a literatura^{13,28} e monodispersas. Utilizando-se o software Quantikov²⁹, foi realizada uma análise estatística da distribuição de tamanho de partículas e os resultados dessa análise estão representados nos histogramas da Figura 5 (b), onde podemos observar partículas com tamanho médio de 78 nm de comprimento. Considerando a faixa ideal para tratamento do câncer pelo efeito EPR, de 70 a 200 nm¹⁰, as imagens da MET revelaram que a hidroxiapatita sintetizada apresenta a distribuição de tamanho ideal para esse tipo de tratamento. Outra característica importante dessas partículas se refere à porosidade revelada tanto pela MET quanto pela técnica de adsorção de N₂, que favorece à incorporação de agentes como os radioisótopos propostos nesse trabalho.

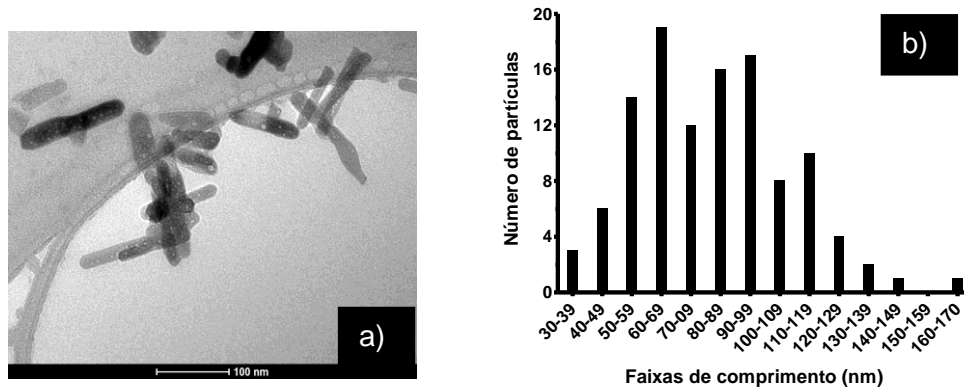


Figura 6 – Imagem da MET (a) e a distribuição de tamanho de partículas (b) calculados através do software Quantikov.

Potencial de incorporação e capacidade de retenção de radioisótopos

O potencial de incorporação e a cinética de liberação do gadolínio nas matrizes de HA e PVA/COL/HA foram avaliados pela técnica de ICP-AES. Os resultados estão representados na Figura 7 (a) e (b). Para o elemento gadolínio, os resultados indicam um potencial de incorporação de 100% tanto para a amostra de HA não funcionalizada quanto para a amostra funcionalizada, uma vez que não foram detectadas quantidades significativas desse elemento nos líquidos passantes no processo de filtração. O gadolínio representa 75% da massa da formulação final, indicando que as nanopartículas de hidroxiapatita podem incorporar grandes atividades do radioisótopo gadolínio-159.

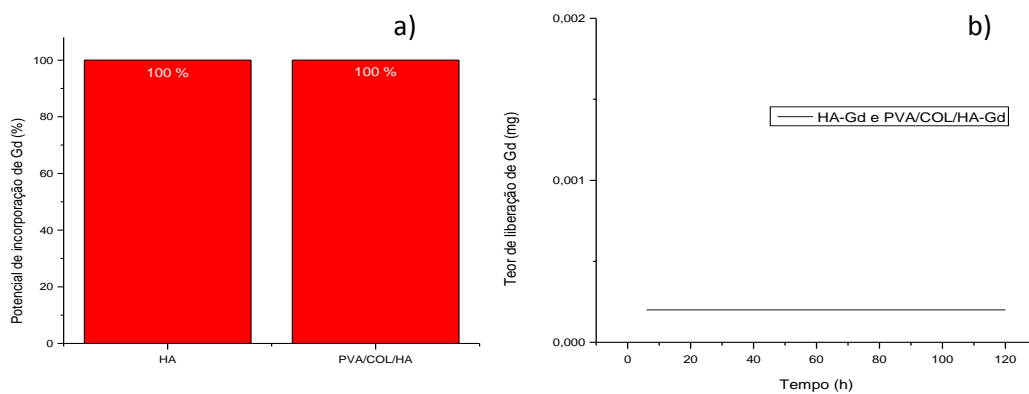


Figura 7 – Resultados do estudo do potencial de incorporação (a) e da capacidade de retenção (b) do elemento gadolínio nas matrizes de HA e PVA/COL/HA.

Quanto ao estudo da capacidade de retenção, como não foram detectadas quantidades significativas de gadolínio nos líquidos passantes no processo de filtração, pode ser inferido que esse elemento não é liberado das matrizes de HA e PVA/COL/HA, considerando os intervalos de tempo testados.

Os materiais nanoestruturados se acumulam nos tumores pelo efeito EPR devido basicamente a dois fatores, porosidade aumentada nos tecidos tumorais que favorece à entrada dos nanomateriais e ausência ou carência de drenagem linfática que impede a saída desses materiais. Dessa forma, a liberação de radioisótopos a partir das matrizes nanoestruturadas não é um efeito desejável, uma vez que, estando fora das nanopartículas, os radioisótopos poderiam deixar os tecidos tumorais e entrar em tecidos saudáveis. Assim, a retenção do elemento gadolínio, observada nas nanopartículas de hidroxiapatita, é uma característica importante para materiais candidatos a agentes radioterapêuticos de tratamento do câncer pelo efeito de retenção e permeabilidade aumentada.

CONCLUSÃO

Nanopartículas mesoporosas de hidroxiapatita podem ser perfeitamente sintetizadas com grau elevado de pureza através da rota química proposta neste trabalho e o processo de funcionalização com PVA e colágeno é viável e eficaz. O gadolínio é um elemento promissor para ser encapsulado pelo sistema híbrido PVA/COL/HA por apresentar elevado potencial de incorporação e elevada capacidade de retenção nas nanoestruturas propostas.

Com base nos resultados obtidos nesse trabalho, sistemas constituídos por nanopartículas mesoporosas de hidroxiapatita funcionalizadas com PVA e colágeno, contendo o radioisótopo gadolínio-159, apresentam-se como fortes candidatos para serem utilizados como agentes de tratamento de osteossarcomas, justificando a continuidade desses estudos em trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

1. Wittig, J. C. *et al.* Osteosarcoma: a multidisciplinary approach to diagnosis and treatment. *Am. Fam. Physician* **65**, 1123–32 (2002).
2. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional. in *Comentários* 460–470 (2010). at <<http://www1.inca.gov.br/cancernobrasil/2010/docs/Comentarios.pdf>>

3. Bacci, G. *et al.* Neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremities with synchronous lung metastases: treatment with cisplatin, adriamycin and high dose of methotrexate and ifosfamide. *Oncol. Rep.* **7**, 339–46
4. Bacci, G. *et al.* Primary chemotherapy and delayed surgery for nonmetastatic osteosarcoma of the extremities. Results in 164 patients preoperatively treated with high doses of methotrexate followed by cisplatin and doxorubicin. *Cancer* **72**, 3227–3238 (1993).
5. Carrle, D. & Bielack, S. S. Current strategies of chemotherapy in osteosarcoma. *Int. Orthop.* **30**, 445–51 (2006).
6. Ferguson, W. S. & Goorin, A. M. Current treatment of osteosarcoma. *Cancer Invest.* **19**, 292–315 (2001).
7. Ando, K. *et al.* Current therapeutic strategies and novel approaches in osteosarcoma. *Cancers (Basel)*. **5**, 591–616 (2013).
8. Ferguson, W. S. & Goorin, A. M. Current treatment of osteosarcoma. *Cancer Invest.* **19**, 292–315 (2001).
9. Bruland, O. S., Skretting, A. & Solheim, O. P. Radioterapia alvo de osteossarcoma usando 153Sm-EDTMP. Uma nova abordagem promissora. *Acta Oncol* (1996).
10. Torchilin, V. P. Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging. *AAPS J.* **9**, E128–47 (2007).
11. Torchilin, V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63**, 131–5 (2011).
12. Han, Y. J. *et al.* Controlled size and morphology of EDTMP-doped hydroxyapatite nanoparticles as model for 153Samarium-EDTMP doping. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **19**, 2993–3003 (2008).
13. Mir, M. *et al.* XRD, AFM, IR and TGA study of nanostructured hydroxyapatite. *Mater. Res.* **15**, 622–627 (2012).
14. Vohra, S., Hennessy, K. M., Sawyer, A. a, Zhuo, Y. & Bellis, S. L. Comparison of mesenchymal stem cell and osteosarcoma cell adhesion to hydroxyapatite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **19**, 3567–74 (2008).
15. Degirmenbasi, N., Kalyon, D. M. & Birinci, E. Biocomposites of nanohydroxyapatite with collagen and poly(vinyl alcohol). *Colloids surfaces B Biointerfaces* **48**, 42–49 (2006).
16. Baker, M. I., Walsh, S. P., Schwartz, Z. & Boyan, B. D. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **100**, 1451–7 (2012).
17. Peppas, N. A. & Mongia, N. K. Ultrapure poly (viny1 alcohol) hydrogels with mucoadhesive delivery characteristics. **43**, 51–58 (1997).
18. Liu, Y. & Zhang, N. Gadolinium loaded nanoparticles in theranostic magnetic resonance imaging. *Biomaterials* **33**, 5363–75 (2012).
19. Soares, D. C. F., de Oliveira, M. C., de Barros, A. L. B., Cardoso, V. N. & Ramaldes, G. A. Liposomes radiolabeled with (159)Gd: in vitro antitumoral activity, biodistribution study and scintigraphic image in Ehrlich tumor bearing mice. *Eur. J. Pharm. Sci.* **43**, 290–6 (2011).
20. Ficai, M., Andronescu, E., Ficai, D., Voicu, G. & Ficai, A. Synthesis and characterization of COLL-PVA/HA hybrid materials with stratified morphology. *Colloids surfaces B Biointerfaces* **81**, 614–619 (2010).
21. Poursamar, S. A., Orang, F., Bonakdar, S. & Savar, M. K. Preparation and characterisation of poly vinyl alcohol/hydroxyapatite nanocomposite via in situ synthesis: A potential material as bone tissue engineering scaffolds. *Int. J. Nanomanuf.* **5**, 330–334 (2010).
22. Khalid, M. & Mushtaq, A. Preparation and in vitro stability of (n,gamma) yttrium-90 hydroxyapatite. *Appl. Radiat. Isot.* **62**, 587–90 (2005).
23. Yan, L., Li, Y., Deng, Z., Zhuang, J. & Sun, X. Surfactant-assisted hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods. *Int. J. Inorg. Mater.* **3**, 633–637 (2001).

24. Zyman, Z., Rokhmistrov, D. & Glushko, V. Structural changes in precipitates and cell model for the conversion of amorphous calcium phosphate to hydroxyapatite during the initial stage of precipitation. *J. Cryst. Growth* **353**, 5–11 (2012).
25. Song, W. *et al.* Electrospun polyvinyl alcohol-collagen-hydroxyapatite nanofibers: a biomimetic extracellular matrix for osteoblastic cells. *Nanotechnology* **23**, 115101 (2012).
26. Asran, A. S., Henning, S. & Michler, G. H. Polyvinyl alcohol–collagen–hydroxyapatite biocomposite nanofibrous scaffold: Mimicking the key features of natural bone at the nanoscale level. *Polymer (Guildf)*. **51**, 868–876 (2010).
27. Asran, A. S., Henning, S. & Michler, G. H. Polyvinyl alcohol–collagen–hydroxyapatite biocomposite nanofibrous scaffold: Mimicking the key features of natural bone at the nanoscale level. *Polymer (Guildf)*. **51**, 868–876 (2010).
28. Verma, G., Barick, K. C., Manoj, N., Sahu, A. K. & Hassan, P. A. Rod-like micelle templated synthesis of porous hydroxyapatite. *Ceram. Int.* **39**, 8995–9002 (2013).
29. Pinto, L. C. M. Quantikov: um analisador microestrutural para o ambiente windows. (1996).

HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES FUNCTIONALIZED WITH PVA AND COLLAGEN CONTAINING ¹⁵⁹GD AS A POTENTIAL TREATMENT AGENT FOR OSTEOSARCOMA

ABSTRACT

Osteosarcoma is the most common type of bone tumors, affecting mostly children, adolescents and young adults. The nanostructured systems, acting as carriers of radioisotopes, have a promising potential for the treatment of osteosarcoma, allowing more selective employment of radiation on tumor cells. In the present work, we prepared a hybrid system consisting of mesoporous hydroxyapatite nanoparticles functionalized with collagen and PVA, containing the element gadolinium as a possible candidate for the treatment of these tumors. The samples were characterized by the techniques of XRD, FTIR, BET, CHN, TEM and TGA, the results indicated that single fase nanostructured mesoporous hydroxyapatite were obtaining and an effective functionalization process was reached. The incorporation potential and retention capacity of gadolinium in nanostructures were studied by ICP-AES, that reveled a 100 % potential for incorporation and high capacity of retention of this element, qualifying the material for the proposed goals.

Key-words: hydroxyapatite nanoparticles, collagen, poly (alcohol vinyl), gadolinium, osteosarcoma.