

...

Biomateriales utilizados en cirugía ortopédica como sustitutos del tejido óseo

CRISTIAN ALEXIS MARTÍNEZ y ANDRÉS OZOLS

*Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Cuyo
Grupo de Biomateriales Para Prótesis, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires*

El empleo de biomateriales para sustitución ósea

Diferentes patologías (quísticas, tumorales o traumáticas) pueden originar cambios estructurales y morfológicos en el tejido óseo. Estas alteraciones o secuelas en el hueso, conocidas como defectos óseos,¹ afectan la funcionalidad del sitio lesionado y lo tornan más proclive a sufrir una fractura patológica, como puede llegar a ocurrir en una extremidad superior o inferior, en la columna o en el maxilar.² El injerto óseo es una alternativa terapéutica representada por un procedimiento quirúrgico que, en caso de ser autólogo, requiere un procedimiento adicional, lo que genera un sitio donante y aumenta la morbilidad posoperatoria en el paciente.^{1,3-5} A esta desventaja se le suman los problemas inmunitarios y el riesgo de transmisión de enfermedades cuando el injerto proviene de un banco óseo. Estas limitaciones han motivado la investigación y el desarrollo de materiales seguros y eficaces, capaces de rellenar defectos óseos, ser reemplazados por el tejido anfitrión e, incluso, estimular los procesos de autorreparación. Así, el empleo de biomateriales para la sustitución de tejidos dañados o enfermos se ha convertido en una práctica rutinaria.

La cirugía traumatológica ortopédica requiere el uso frecuente de materiales de relleno para contribuir a los procesos reparativos de las lesiones musculoesqueléticas. En la actualidad, el injerto autólogo continúa siendo el procedimiento de referencia (*gold standard*); sin embargo, los sustitutos óseos son una alternativa terapéutica que evita un procedimiento quirúrgico adicional.⁶ Esto se

sustenta en la mejora sostenida de las propiedades bioquímicas y mecánicas que dan lugar a resultados clínicos satisfactorios. Los materiales utilizados como sustitutos óseos son de naturaleza cerámica (p. ej., hidroxiapatita, β -fosfato tricálcico), ya que su composición química es similar a las sales de calcio de la matriz mineralizada del hueso. Son altamente biocompatibles y pueden emplearse de forma individual o combinados con moléculas orgánicas (colágeno, quitina, ácidos poliláctico o poliglicólico, caprolactona, etc.), dando origen a los biocomposites, esto es, materiales de estructura compuesta (Fig. 1).

Los trabajos de investigación a nivel mundial están centrados en el desarrollo de andamios bioactivos, osteoconductores y sustancias osteoinductoras capaces de estimular las células osteoprogenitoras en el sitio de la lesión, característica de los biocomposites cerámico-proteína.⁷⁻¹¹ En la Argentina se investigan y desarrollan biomateriales para sustitución ósea, trabajando en conjunto con centros nacionales e internacionales. Los materiales sintetizados incluyen hidroxiapatita particulada y en forma de andamios (*scaffolds*), biocerámicos y biocomposites, hidroxiapatita con óxidos biocompatibles (ZrO_2 , TiO_2), y biocerámicos con colágeno-factores de crecimiento. El objetivo de este artículo es analizar el empleo de biocerámicos como materiales de sustitución del tejido óseo, biomateriales comercialmente disponibles y sintetizados en la Argentina, y exponer sus diferentes aplicaciones terapéuticas.

Tipos de biocerámicos según su interacción con los tejidos biológicos

Los materiales biocerámicos pueden ser clasificados como bioinertes, bioactivos y bioabsorbibles, de acuerdo con su interacción con los tejidos. Todos estos son biológicamente compatibles y su diferenciación depende de la

Recibido el 00-0-0000. Aceptado luego de la evaluación el 0-00-0000.

Correspondencia:

Dr. nombre y apellido
Calle 000

forma de reacción del organismo ante su presencia.¹² No existe ningún biomaterial que no genere una respuesta inflamatoria inicial; sin embargo, el tipo de comportamiento del biocerámico queda definido por la forma como este evoluciona. Los cerámicos bioinertes (p. ej., alúmina Al_2O_3 , zirconia ZrO_2) no interaccionan con el tejido, por lo que este los aísla y forma una cápsula fibrosa alrededor del implante. Este grupo comprende aquellos que tienen capacidad osteoconductiva y los que carecen de esta propiedad.¹² Los cerámicos bioactivos, por su parte, establecen una unión química con el tejido óseo debido a la formación de una capa biológicamente activa de hidroxiapatita en su superficie.^{7,12-14} Los cerámicos bioabsorbibles cuentan con la característica de tener una reactividad biológica y química muy elevada, por lo cual son sustituidos por el tejido anfitrión de forma rápida y eficaz. El material más representativo de este grupo es el β -TCP.²

Las reactividades químicas relativas en un medio biológico de los biocerámicos se establecen en función del tiempo transcurrido desde que el material entra en contacto con el tejido. Las variables elegidas para determinar la reactividad química son la velocidad de liberación de productos de disolución iónica y el cambio de pH en el medio. Así, por ejemplo, el β -TCP muestra una rápida disolución con una elevada liberación de iones, lo que representa, a su vez, un marcado cambio de pH, que da como resultado la rápida sustitución del material por el tejido óseo. En cambio, el Al_2O_3 tiene escasa reactividad química, la liberación de iones y el cambio de pH son casi imperceptibles, no se integra al tejido anfitrión y aun después de miles de horas de exposición al medio fisiológico la única respuesta biológica posible es el encapsulamiento del biomaterial. Por otra parte, los vidrios y vitrocerámicos bioactivos exhiben un comportamiento inter-

medio entre bioinerte y bioabsorbible. Esto se debe a que su superficie reactiva provee sitios de enlace para los componentes proteicos de los tejidos duros y blandos que intervienen en la adherencia tisular. A su vez, exclusivamente en el tejido óseo, liberan iones de calcio, fosfato y silicio, que promueven la nucleación de hidroxiapatita y estimulan la proliferación de hueso sobre la superficie del implante¹² (Fig. 2).

Aplicaciones clínicas

Hoy se cuenta con diferentes tipos de injertos, los cuales se clasifican según su origen. Pueden distinguirse los extraídos del propio paciente (autólogos); los provenientes de otro individuo de la misma especie, pero de dife-



Figura 1. Hidroxiapatita densa de tipo cortical e hidroxiapatita esponjosa.

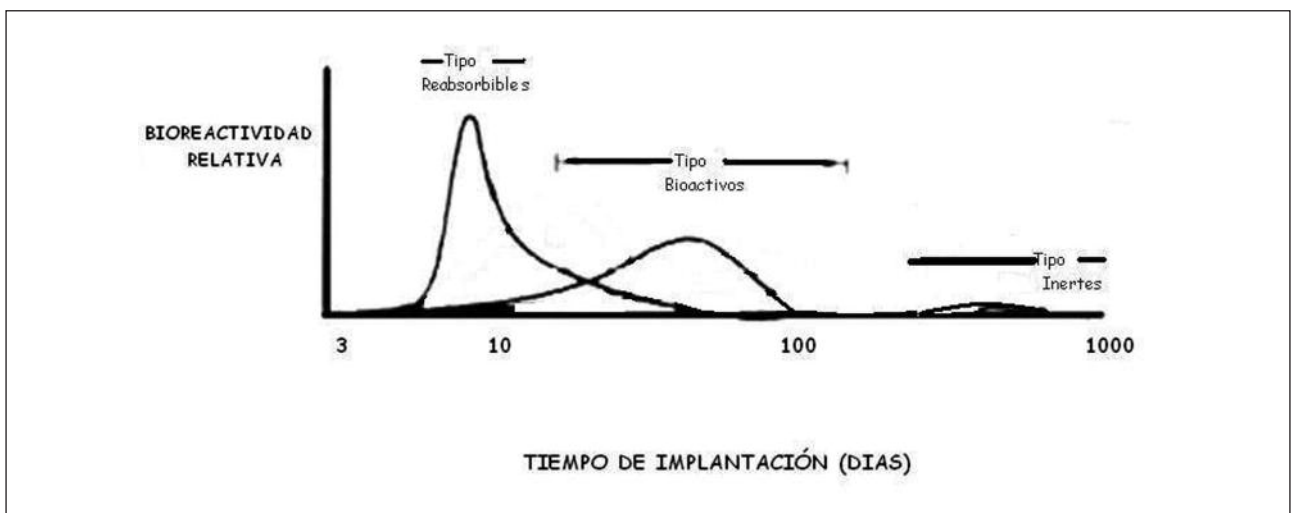


Figura 2. Defectos óseos de diferentes etiologías rellenos con materiales osteoconductivos como la hidroxiapatita y el β -TCP. Fuente <http://www.ortho.ufl.edu/>

rente genotipo (aloinjertos; p. ej., hueso de banco); los de origen animal (xenoinjertos o heterólogos; p. ej., hueso bovino) y los sintéticos (p. ej., β -TCP).

La eficacia de la selección del injerto debe fundamentarse en el conocimiento de los mecanismos de interacción con el organismo y de neoformación ósea, que se describen a continuación.

Osteogénesis: es el proceso de formación y desarrollo de hueso. Un injerto con propiedades osteogénicas tiene osteoblastos viables, únicos capaces de sintetizar la matriz osteoide, la cual posteriormente se mineraliza. La supervivencia de las células trasplantadas cuando se realiza un injerto estará determinada por su distancia a una fuente de aporte sanguíneo. Sólo lo harán las que se encuentren a menos de 300 μ m de distancia.

Osteoconducción: el injerto tiene la función de esqueleto y provee una matriz física que constituye una guía para la aposición de tejido óseo.

Osteoinducción: se inicia por medio de la transformación de células mesenquimáticas indiferenciadas y perivasculares de la zona receptora en células osteoformadoras, en presencia de moléculas reguladoras del metabolismo óseo (BMP, PDGF, FGF, IGF, VEGF15).⁷ La fuente de estas proteínas son los injertos autólogos, el plasma rico en factores de crecimiento y las proteínas morfogenéticas obtenidas mediante técnicas de ingeniería genética.^{9,10}

El injerto autólogo es el de elección, dado que es un procedimiento quirúrgico que evita la transmisión de enfermedades y el rechazo inmunitario, y proporciona buenos resultados posoperatorios. Se lo utiliza de forma sistemática para el tratamiento de las pseudoartrosis, salvando brechas diafisarias, rellenando defectos metafisarios y en cirugías de revisión. Provee además, de forma simultánea, los tres mecanismos de regeneración ósea: osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción. Como contrapartida a estos beneficios, sus desventajas más frecuentes son la morbilidad de la zona dadora y la insuficiente cantidad de injerto, por ejemplo, en las artrodesis vertebrales y en los defectos de los huesos largos, donde se requieren injertos de gran volumen. Otro factor para tener en cuenta es la posibilidad de sufrir, como en el caso de todo procedimiento quirúrgico, infección, dolor, hemorragia, debilidad muscular o lesión neurológica.²

El aloinjerto, por su parte, ofrece la estructura a partir de la cual comienza a formarse hueso nuevo, que luego es reemplazada gradualmente por el tejido anfitrión. Como no tiene células vivas, la formación ósea producida por proliferación subperióstica y endocondral es lenta y se pierde un volumen apreciable en comparación con el injerto autólogo. Se lo emplea fundamentalmente para soportar cargas mecánicas en zonas donde hace falta soporte estructural. Tiene elevada inmunogenicidad y es un vector potencial de patologías. Sin embargo, representa una alternativa de relevancia en los pacientes que pre-

sentan un autoinjerto inadecuado, por ejemplo, para el tratamiento de la pseudoartrosis. Se utiliza también en reconstrucciones secundarias a resecciones oncológicas y en defectos óseos segmentarios.

Los injertos heterólogos de origen animal, conocidos también como xenoinjertos, basados en hidroxiapatita, son una opción más que aceptable y han tenido resultados clínicos satisfactorios. Su característica fundamental es su capacidad osteoconductora, al igual que el aloinjerto, pero sin desventajas en cuanto a la inmunogenicidad.^{2,7,15} Se los suele utilizar para el relleno de defectos óseos y en artrodesis vertebrales. Por último, cabe mencionar a los materiales sintéticos, cuyo representante más importante es el TCP. Este biocerámico, altamente biocompatible, reabsorbible y osteoconductor, es muy utilizado para la reparación de defectos óseos. Esto se debe a sus características fisicoquímicas, a su reactividad biológica y, fundamentalmente, a su propiedad de ser sustituido de forma rápida por el tejido anfitrión. Así, el factor tiempo y la aceptación por parte del organismo lo transforman en un material de elección. En cuanto a sus desventajas, su mayor menoscabo es el costo, ya que sólo se obtiene por síntesis química, y también sus deficientes propiedades mecánicas.

La combinación de los biocerámicos referidos con una fase orgánica da origen a los biocomposites, que potencian las propiedades de cada fase del sustituto óseo. Utilizados ampliamente en los Estados Unidos y Europa, incluyen diferentes tipos de proteínas (colágeno de tipos I y II) y biopolímeros absorbibles (ácido poliláctico y poliglicólico). Los empleados con mayor frecuencia, según la bibliografía, son hidroxiapatita- β -TCP y hidroxiapatita-colágeno; este último tiene la particularidad de contar con una matriz orgánica, que hace que el biomaterial se asemeje a la estructura original del tejido huésped. A su vez, permite la fijación de factores de crecimiento que estimulan la neoformación del tejido. Algunas situaciones clínicas en las que suele utilizarse este tipo de materiales se presentan en la figura 3.

Investigación y desarrollo de sustitutos óseos

Para la creación de biomateriales capaces de ser funcionales a los procesos de reparación deben conocerse las bases fisiológicas de su funcionamiento. El hueso es un tejido conjuntivo especializado, compuesto por células y una matriz extracelular, la cual tiene una característica que la diferencia de las demás: está altamente mineralizada. Estos minerales son sustancias de naturaleza cerámica, básicamente sales de fosfato de calcio, con una estequiometría próxima a la hidroxiapatita.¹⁶ Por este motivo, los sustitutos óseos están constituidos por los mismos minerales que el hueso. Sin embargo, en cuanto



Figura 3. Microscopia electrónica de barrido (SEM).
A. Biocerámico. B. HA-40 β TCP. C. Porosidad controlada e interconectada en un biocerámico.

a la función, los biocerámicos (β -TCP y hidroxiapatita natural o sintética) tienen sólo la propiedad de osteoconducción; los demás componentes esenciales para la neoformación del tejido óseo (células y señales bioquímicas) son aportados por el propio organismo en el sitio de la lesión.^{7,15-17}

Los biocomposites o materiales compuestos están constituidos por un biocerámico en combinación con un material orgánico, como el colágeno de tipo I, imitando la estructura del hueso. Estos materiales cumplen la función de conducir la neoformación del tejido y, a su vez, proveer el sitio de adhesión a los factores de crecimiento. La sinergia entre el biocerámico y la matriz colágena contribuye y potencia la reparación del tejido.¹⁶ Estos materiales son sintetizados por medio de procesos denominados biomiméticos debido a su similitud con lo que sucede en el organismo. Un paso adicional en el proceso

de elaboración de materiales biomiméticos es la incorporación de células pluripotenciales (*stem cells*), que se depositan en los biocomposites. Estos desempeñan entonces una doble función: como vehículos (*carriers*) y como andamios (*scaffolds*), clave actual y fundamental en la ingeniería de tejidos.

Existe una amplia variedad de sustitutos óseos desarrollados en el país, que responden a diferentes líneas de investigación. Estas proponen la búsqueda de biomateriales seguros, eficaces y sintetizados con recursos naturales abundantes en la región. A partir de estos conceptos se desarrollan materiales de relleno y matrices para hueso compuestos por hidroxiapatita bovina, hidroxiapatita sintética, biocerámicos bifásicos hidroxiapatita- β -TCP, andamios biocerámicos, hidroxiapatita-óxidos biocompatibles y biocomposites biocerámicos-colágeno (Figs. 1, 4 y 5). Luego de sintetizados se realizan pruebas de biocompatibilidad (ensayos *in vitro* e *in vivo*) y se evalúan sus propiedades mecánicas. Todo esto deja sentadas las bases para su ulterior aplicación clínica.

Productos comerciales

Los productos comerciales pueden ser agrupados en materiales biocerámicos, y vidrios y vitrocerámicos bioactivos.

Materiales biocerámicos

Fosfato tricálcico (TCP)

Este biomaterial, de fórmula química $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, es el representante más importante de los biocerámicos sintéticos para relleno óseo. Tiene una relación de peso atómico Ca/P de 1,51, mientras que el de la hidroxiapatita es de 1,67, por lo cual tienen una integración biológica diferente, ampliamente descrita en párrafos anteriores.²

El TCP se obtiene por síntesis química y presenta dos fases: la α , que es estable a alta temperatura (1300-1400°C), y la β , estable a temperatura ambiente. La fase α es un componente básico en la formulación de los

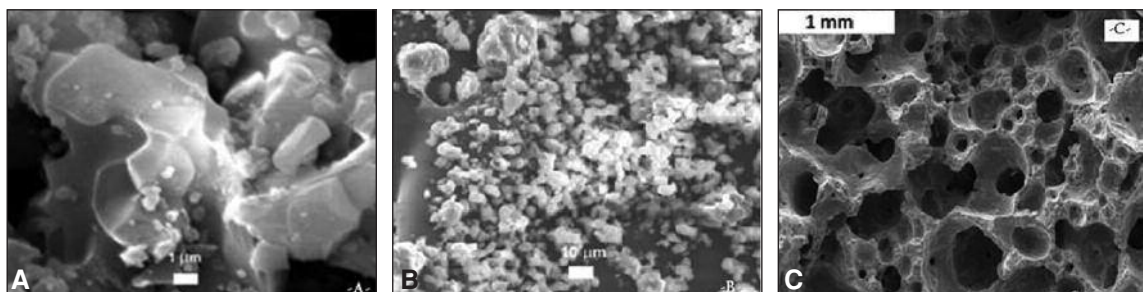


Figura 4. Microscopia electrónica de Barrido (SEM) a) Biocerámico b) HA-40 β TCP c) Porosidad Controlada e interconectada en un Biocerámico



Figura 5. Diferentes tipos de biocerámicos.
De izquierda a derecha: HA-20βTCP, HA cortical,
HA 300 a 600µm - HA-40βTCP.

cementos de fosfato de calcio que fraguan en medio fisiológico cuando se los mezcla con soluciones ácidas. Estos cementos sustituyen a los de sulfato de calcio y se emplean para el relleno de fisuras en traumatología, cirugía maxilofacial y neurocirugía; además, cuentan con la característica de transformarse, una vez fraguados, en hidroxiapatita en el medio fisiológico.¹⁹ La fase β es biodegradable por una combinación de disolución fisicoquímica y fragmentación, que implica la sustitución paulatina del material por tejido óseo. Esta fase suele presentarse en forma de granos porosos, que se absorben a mayor velocidad que la hidroxiapatita debido a su alta solubilidad en el medio fisiológico. Se emplean en odontología y traumatología como materiales de sustitución. Los productos comerciales más representativos son: BIORESOB[®], CHRONOS[®], CEROS[®], CERASORB[®], VITOSS[®], ODONTIT[®]-BCTP 300/1000.

Hidroxiapatita

La hidroxiapatita presente en la matriz mineralizada del hueso (carbonatada) y que se utiliza como relleno óseo tiene una estructura y composición química próxi-

mas a la hidroxiapatita cristalina de fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Puede ser natural o sintética; la primera es producida por calcinación de hueso bovino (Bio-Oss[®]) o equino (Bio-Gen[®]), por transformación hidrotérmica de carbonatos de calcio de corales (HAP-200[®]) o ficógena (Algipore[®]). En cambio, la sintética es producida frecuentemente por síntesis química en fase líquida a partir de procesos de disolución y precipitación de precursores iónicos de Ca^{++} y PO_4 . Estos iones son proporcionados por la hidrólisis de sales, hidróxidos o ácidos, controlando el pH y la temperatura. Esta forma de producción permite alcanzar diversas ventajas respecto de los derivados naturales, como reproducibilidad y control de las propiedades fisicoquímicas.

La hidroxiapatita tiene la ventaja de ser, al igual que los demás biocerámicos, radiopaca, lo que permite el control posimplantación. Sin embargo, su limitación, como la del β-TCP, es su baja resistencia mecánica, que restringe su aplicación a situaciones de relleno óseo sin exposición a cargas.^{2,17-20} La hidroxiapatita natural y la sintética comercialmente disponibles deben satisfacer la condición de no tener contaminación de metales pesados (menor de 50 ppm del contenido total de Pb, As, Hg, Se) y de que su cristalinidad sea mayor de 95%.²¹ Los productos comerciales más usados son ENDOBON[®], CERABONE[®] ALGIPORE[®], OSTIM[®], ORTHOSS[®] y BIO-OSS[®].

Vidrios y vitrocerámicos bioactivos

Larry Hench fue pionero en el desarrollo de los vidrios bioactivos capaces de unirse químicamente al hueso en la década de 1970. La interacción con el organismo se realiza por medio de la formación de una capa biológicamente activa de hidroxiapatita en su superficie, que permite establecer la unión con el tejido óseo.^{12-14,19,20}

Estos vidrios tienen uso clínico desde hace muchos años, pero su utilización había declinado debido a sus propiedades mecánicas deficientes y a la imposibilidad

Tabla. Clasificación de los biocerámicos en relación con la respuesta tisular.

<p>CERÁMICOS INERTES densas o porosas. No interaccionan con el tejido</p>	<p>Cerámicas no Osteoconductoras: La capsula fibrosa (observable por microscopio óptico)</p>	<p>Materiales carbonosos cristalinos, alúmina</p>
	<p>Cerámicas Osteoconductoras: La capsula fibrosa (observable solo por microscopio electrónico)</p>	<p>Titania, Zirconia, HA- Zirconia</p>
<p>CERÁMICOS BIOACTIVOS, son densas, pero en forma particulada, a menor tamaño de partícula se van volviendo reabsorbible. (Forman enlace químico con el Hueso)</p>		<p>Biovidrios, Biovitrocerámica</p>
<p>CERÁMICOS REABSORBIBLES (son sustituidas por el tejido)</p>		<p>Yeso de paris, βTCP, Fosfato Monocálcico</p>

de su compactación dentro del defecto óseo. El interés por este tipo de materiales se ha reanudado, ya que se demostró que los iones biológicamente activos de silicio y calcio, liberados por estos, pueden estimular los procesos autorreparativos en el huésped. Estos materiales se denominan de tercera generación en ingeniería de tejidos.^{14,21-24} Se comercializan dos formas de cristales bioactivos: PerioGlas® y Biogran®, formados por partículas de Bioglass® (45% SiO₂, 24,5% Na₂O, 24,5% CaO y 6% P₂O₅ molar) de diferente tamaño. PerioGlas® tiene un rango de tamaño de partícula de 90 a 710 µm y Biogran®, de 300 a 355 µm.

Estado actual de los biomateriales y perspectivas futuras

Los sustitutos óseos sintéticos actuales sirven de ayuda para la autorreparación de los tejidos. Los materiales osteoconductivos han mostrado ser eficaces para el tratamiento de los defectos del hueso metafisario asociados a determinadas fracturas, en especial en el radio distal, el platillo tibial y el calcáneo. Evitan aumentar la morbili-

dad en el paciente, ya que no necesitan un segundo procedimiento quirúrgico y su evolución puede seguirse debido a su radiopacidad. Otras ventajas importantes son su biocompatibilidad y la disponibilidad de amplios volúmenes.

La mayoría de los sustitutos óseos sintéticos sólo cumplen la función de osteoconducción y no pueden llevar a cabo los demás procesos de neoformación ósea (osteogénesis y osteoinducción).

En la Argentina, se están investigando y desarrollando biomateriales innovadores, capaces de responder satisfactoriamente ante las demandas clínicas en situaciones desfavorables. El mercado internacional ofrece una amplia variedad de productos para sustitución del hueso. La importancia de conocer sus características técnicas es fundamental para seleccionar el material más adecuado para cada situación clínica en particular. La investigación y el desarrollo de sustitutos óseos sintéticos apuntalan a la ingeniería de tejidos, cuyo objetivo fundamental es la terapia celular y el reemplazo de órganos dañados. Hasta el día que se alcance tal objetivo, se utilizarán estos biomateriales, que tienen resultados clínicos aceptables y ampliamente documentados en la literatura científica.

Bibliografía

1. MacDuff E, Reid R. Bone tumour pathology. *Surgery* 2009;27(2):55-62.
2. Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 1987;18(2):323-34.
3. Ha K, Lee J, Kim K. Bone graft volumetric changes and clinical outcomes after instrumented lumbar or lumbosacral fusion: A prospective cohort study with a five-year follow-up. *Spine* 2009;34(16):1663-8.
4. Kruyt MC, Delawi D, Habibovic P, Oner FC, Van Blitterswijk CA, Dhert WJA. Relevance of bone graft viability in a goat transverse process model. *J Orthop Res* 2009;27(8):1055-9.
5. Solheim E, Pinholt EM, Talsnes O, Larsen TB, Kirkeby OJ. Bone formation in cranial, mandibular, tibial, and iliac bone grafts in rats. *J Craniofac Surg* 1995;6(2):139-42.
6. Beswick A, Blom AW. Bone graft substitutes in hip revision surgery: A comprehensive overview. *Injury* 2011;42(suppl 2):S40-6.
7. Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000;21(24):2529-43.
8. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 2005;26(27):5474-91.
9. Petite H, Viateau V, Bensaïd W, Meunier A, De Pollak C, Bourguignon M, Oudina K, Sedel L, Guillemin G. Tissue-engineered bone regeneration. *Nat Biotechnol* 2000;18(9):959-63.
10. Shin H, Mikos AG. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials* 2003;24(24):4353-64.
11. Vaccaro AR. The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics* 2002;25(5):571-8.
12. Hench LL. Ceramics, glasses and glass-ceramics. En Ratner BD, Hoffman AS, Lemons JE, ed. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 2.^a ed. Elsevier Academic Press; San Diego, CA, 2004. p. 73-84.
13. Hench LL. Bioceramics. *J Am Ceram Soc* 1998;81(7):1705-27.
14. Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science* 2002;295(5557):1014-7.
15. Hench LL. The story of bioglass®. *J Mater Sci Mater Med* 2006;17(11):967-78.
16. Damien CJ, Parsons JR. Bone graft and bone graft substitutes: A review of current technology and applications. *Journal of Applied Biomaterials: An Official Journal of the Society for Biomaterials* 1991;2(3):187-208.

17. **Misch CE, Dietsh F.** Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 1993;2(3):158-67.
18. **LeGeros RZ.** Properties of osteoconductive biomaterials: Calcium phosphates. *Clin Orthop* 2002(395):81-98.
19. **Klein P, Schell H, Streitparth F, Heller M, Kassi J, Kandziora F, Bragulla H, Haas NP, Duda GN.** The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions. *J Orthop Res* 2003;21(4):662-9.
20. **Moore WR, Graves SE, Bain GI.** Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001;71(6):354-61.
21. **IRAM 9440-1.** Implantes quirúrgicos, Hidroxiapatita, Parte 1. Hidroxiapatita sintetizada.
22. **Cao W, Hench LL.** Bioactive materials. *Ceram Int.* 1996;22(6):493-507.
23. **Bucholz RW.** Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes. *Clin Orthop* 2002(395):44-52.
24. **Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL.** Bone tissue engineering: State of the art and future trends. *Macromolecular Bioscience* 2004;4(8):743-65.