

REVISION DE TEMAS

LOS MATERIALES DE FOSFATO DE CALCIO EN LA CIRUGIA DEL TEJIDO OSEO

Estado actual y perspectivas

Ramón González¹

En este trabajo se resumen los aspectos más relevantes sobre los materiales de fosfato de calcio que se usan actualmente en el tratamiento preventivo y de restauración del tejido óseo y dental humano.

Sobre la base de la experiencia internacional acumulada durante las tres últimas décadas y de los propios resultados obtenidos en nuestro país, se realiza un análisis del estado actual y las perspectivas de desarrollo futuro inmediato y a más largo plazo en este campo.

DESARROLLO DE LOS MATERIALES DE FOSFATO DE CALCIO

El comienzo de la aplicación del fosfato de calcio como sustituto de hueso o del injerto óseo puede ser considerado en el año 1920 cuando Albee reportó que el fosfato tricálcico usado en un defecto óseo provocó la osteogénesis o la formación de un nuevo hueso (1). Unos 50 años más tarde, en 1969 (2) y 1971 (3) se reportó un método para la preparación de una cerámica de fosfato de calcio constituida principalmente por el mineral fluorapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) recomendándose su aplicación como material de implante dental y en medicina.

En 1971, Hench et al. (4) desarrollaron una nueva cerámica que contenía calcio, fósforo y vidrio (silicato), denominada *Bioglass* y demostraron que ésta se enlaza químicamente con el hueso a través de una capa rica en fosfato de calcio en su superficie. En 1973 se

reportó otro método para la preparación de cerámicas de fosfato tricálcico proponiéndose su uso como material de implante óseo (5).

En 1974 se publicó la primera aplicación dental del fosfato tricálcico en defectos periodontales en perros (6). En el propio año, Hubbard (7) presentó la preparación de algunas cerámicas de fosfato de calcio a partir de reactivos químicos y exploró su posible uso como implantes ortopédicos. Al mismo tiempo Roy y Linnehan (8) reportaron un método de preparación de una hidroxiapatita a partir de corales marinos por transformación hidrotérmica del carbonato de calcio del coral, basados en el concepto de replaminaforma desarrollado por White et al. (9). Este método de preparación difiere de los procesos convencionales de fabricación de cerámicas, ya que no son necesarios los pasos de compactación y sintetización.

¹ Investigador Científico, Laboratorio de Biomateriales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apdo. 6880, Ciudad de La Habana, Cuba.

En 1975 se reportó el uso de una cerámica porosa de fosfato de calcio para reparar un defecto intraóseo en perros y quedó demostrado que este material no es tóxico, es biocompatible y no causa cambios hematológicos significantes en cuanto a los niveles de calcio y fósforo. Este estudio también demostró histológicamente el crecimiento de un nuevo hueso dentro de los poros y la reparación del defecto, indicando el gran potencial de este material como una alternativa para el autoinjerto óseo (10). El material usado en esta experiencia resultó ser una mezcla de $B-Ca_3(PO_4)_2$ y de hidroxiapatita.

A partir de este momento se intensificaron los trabajos de Jarcho en los EE.UU. (11-14) y de Groot y colaboradores en Europa (15-21) sobre las potencialidades de las cerámicas de hidroxiapatita como material de implante o sustituto de hueso en estomatología hasta llegar a la introducción de productos comerciales.

Actualmente existen en el mercado varios productos de fosfato de calcio y vidrios biológicos que contienen calcio y fósforo, que aunque han sido registrados y avalados suficientemente para su aplicación clínica, todos se encuentran en plena fase de investigación-desarrollo.

El éxito de los diferentes biomateriales de fosfato de calcio en la reparación del tejido óseo en las distintas especialidades médicas se debe a que estas cerámicas presentan una gran identidad química y estructural con el material inorgánico componente del hueso, conocido como apatita biológica y son calificados como bioactivos ya que establecen intercambio químico y formación de enlaces interfaciales entre el tejido vivo y el implante (22-26).

De acuerdo a su aspecto físico estas cerámicas se clasifican en densas y porosas en dependencia de la micro y macroporosidad. Atendiendo a su comportamiento e interacción con el tejido vivo se clasifican en reabsorbibles y no reabsorbibles.

CERAMICAS DENSAS Y POROSAS

Las cerámicas densas y porosas se fabrican en general por compactación de polvos (fosfato de calcio, hidroxiapatita, etc.) a altas presiones, seguido de un proceso de sintetización a 1000-1300°C. Presentan una microporosidad variable según el tipo y el proceso empleado en su fabricación y su resistencia mecánica llega a ser en muchos casos similar a la del hueso cortical (tabla 1) (5,7).

TABLA 1. Propiedades mecánicas de diferentes tipos de huesos y de las cerámicas de fosfatos de calcio (69)

| Hueso | Resistencia compresión (Mpa) | Resistencia tracción (Mpa) | Módulo elástico (Mpa x10 ⁹) |
|----------------------|------------------------------------|----------------------------------|---|
| Hueso cortical | 135-160 | 69-110 | 1,38 |
| Hueso esponjoso | 40-60 | | |
| Dentina humana | 295 | 51,7 | |
| Esmalte dental | 384 | 130 | |
| CERAMICAS DE Ca-P | | | |
| Porosas | 30-170 | 41,8 | 3,45-10,3 |
| Densas | 917 | 78-196 | |
| | 120 | 61-113 | |
| | 308-509 | 38-48 | |
| | 390-430 | 115 | |

Las cerámicas porosas (macroporosas) se logran también por vía de síntesis y sintetización mediante la adición de sustancias orgánicas como naftaleno, H_2O_2 , etc. que al volatilizarse, provocan los poros (7,18); mediante estos procesos resulta muy difícil de lograr la reproducibilidad del material y sobre todo que los poros sean uniformes y abiertos para evitar los fondos de saco que provocan fracasos de los implantes por necrosis de los tejidos atrapados en estas cavidades.

En el caso de los biomateriales obtenidos a partir de los corales, la macroporosidad es una propiedad inherente del coral, la cual es conservada durante su conversión química a hidroxiapatita (figura 1) (27, 28, 29).

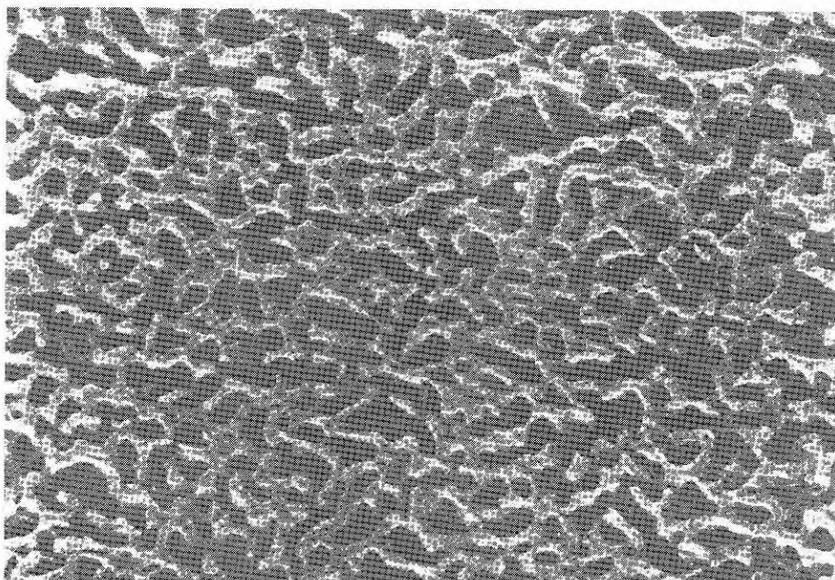


Figura 1. Superficie de la hidroxiapatita coralina apreciándose su estructura porosa tridimensionalmente interconectada, muy similar al hueso esponjoso.

Una macroporosidad con poros de 150 μm de diámetro es considerada ideal para el crecimiento del tejido hacia dentro del implante, ya que ésta es similar a las dimensiones de la porosidad del hueso esponjoso humano. Los corales empleados en la fabricación de estos biomateriales poseen un diámetro medio de sus poros de 200 μm . En este caso la menor resistencia de los materiales porosos en comparación con los densos se ve compensada por el hecho de que la propia proliferación penetrante del tejido hacia dentro del implante aumenta extraordinariamente sus propiedades mecánicas.

MATERIALES REABSORBIBLES Y NO REABSORBIBLES

La hidroxiapatita está descrita como no reabsorbible mientras que los fosfatos tricálcicos ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, etc.) son reabsorbibles (30-35).

La reabsorción refleja el grado de biodegradación y es una función de la composición química (HA, β TCP, mezclas de estos compuestos, etc.), de la porosidad y del tamaño de los cristales.

Algunos estudios *in vitro* han establecido que la reabsorción es proporcional a la solubilidad y

propiedades físico-químicas de estas sustancias, pero este es un tema que no está completamente claro aún y sigue siendo objeto de investigación.

APLICACIONES CLINICAS

Las aplicaciones clínicas de las cerámicas de fosfato tricálcico abarcan hoy día prácticamente a todas las especialidades médicas relacionadas con la cirugía del tejido óseo (odontología, cirugía maxilofacial, ortopedia, neurocirugía, etc.) El uso más extendido se encuentra en el relleno de cavidades óseas en general, sustitución de fragmentos óseos limitados y la remodelación de estructuras y defectos óseos post-traumáticos (36-41).

El tipo de material a emplear (denso o poroso, reabsorbible o no) depende del tipo de hueso a tratar y del sitio de implantación, así como de otros factores como disponibilidad del material, etc.

Las cerámicas densas de hidroxiapatita se están empleando para fabricar prótesis y dispositivos especiales como prótesis del oído medio, canal de Wall y prótesis de esternón (41).

BIOMATERIALES DE FOSFATO DE CALCIO A PARTIR DE CORALES MARINOS

Desde el año 1986 se trabaja en el Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba sobre los aspectos de ciencias básicas aplicadas en el desarrollo, fabricación, caracterización y aplicación de diferentes biomateriales de fosfato de calcio a partir de corales marinos y otras materias primas y productos naturales nacionales. En total se investiga en cinco tipos de biomateriales que bajo el nombre de coralinase encuentran en diferentes etapas de desarrollo y aplicación (42, 43) (tabla 2).

Los exoesqueletos coralininos han resultado ser en este caso una excelente fuente para la obtención de biomateriales, ya que además de

su estructura porosa tridimensionalmente interconectada, muy similar a la del hueso, aportan al producto una composición química muy cercana a la del tejido natural, no sólo de macrocomponentes, sino también de microelementos (tabla 3). Estos últimos juegan un papel muy importante en los mecanismos bioquímicos y enzimáticos que favorecen los procesos de biomineralización.

Por otro lado, a partir de las estructuras coralinas se han podido obtener diferentes tipos de biomateriales, tanto reabsorbibles como no reabsorbibles con propiedades biomecánicas muy similares a los distintos tipos de huesos (figura 2). Estos materiales se encuentran en diferentes fases de aplicación clínica y han posibilitado ofrecer alternativas seguras como sustitutos de los injertos óseos con propiedades osteoconductoras.

TABLA 2. Biomateriales cubanos de fosfato de calcio. Coralina.

| Biomaterial Nombre | Compuesto químico fundamental | Forma física (porosidad) | Reabsorción | Fase de desarrollo |
|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------|
| HAP-200Hidroxiapatita | Poroso | No Reabsorbible | Aplicación Clínica (H) | |
| HADHidroxiapatita | Denso | No Reabsorbible | No Clínica (H) | Investigación |
| CD-FTC | β -Fosfato Tricálcico | Denso | Reabsorbible (Moderada) | Preclínica (A) |
| Coral Bioactivo | Carbonato de calcio (Aragonito) | Poroso | Reabsorbible | Preclínica (A) |
| Coral Bioactivo CBD (Aragonito) | Carbonato de calcio | Denso (Natural) | Reabsorbible (A) | Preclínica |

(H) en humanos

(A) en animales

TABLA 3. Composición química de la parte inorgánica del hueso, el esmalte, la dentina y de la hidroxiapatita hap-200

| Elemento | Hueso ¹ | Esmalte ² | Dentina ² | HAP-200 |
|-----------|--------------------|----------------------|----------------------|---------|
| % EN PESO | | | | |
| Calcio | 25,6 | 36,1 | 35 | 39,3 |
| Fósforo | 12,3 | 17,3 | 17,1 | 18,7 |
| Magnesio | 0,39 | 0,5 | 1,2 | 0,14 |
| Carbonato | 4,0 | 3,0 | 4,0 | < 2 |
| Sodio | 0,6 | 0,2 | 0,2 | 0,12 |
| Potasio | 0,3 | 0,3 | 0,07 | < 0,05 |
| Hierro | 0,017 | 0,0025 | - | 0,0017 |
| Cobre | 0,0048 | 0,01 | - | 0,0008 |
| Plomo | 0,015 | 0,037 | (Diente) | 0,0027 |
| Manganeso | 0,0022 | D | D | 0,0005 |
| Estaño | 0,00005 | D | D | ND |
| Aluminio | 0,0005 | D | D | 0,001 |
| Estroncio | 0,0002 | D | D | ND |
| Boro | 0,014 | D | D | ND |
| Cloruro | 0,19 | 0,3 | 0,03 | ND |
| Fluoruro | 0,31 | 0,016 | 0,017 | ND |
| Azufre | - | 0,1 | 0,2 | ND |
| Silicio | D | 0,003 | - | 0,001 |
| Níquel | D | D | Det. | 0,0002 |
| Zinc | D | 0,016 | 0,01 | 0,0037 |

D = Se detecta por espectrografía de emisión

ND = No se detecta por espectrografía de emisión u otros métodos

1 = Biochemist's Handbook. Ed Ciril Long. 1961, pág. 717.

2 = Benque E.P. et al. J de Parodontologie, Vol. 5, No. 2,89, 1986.

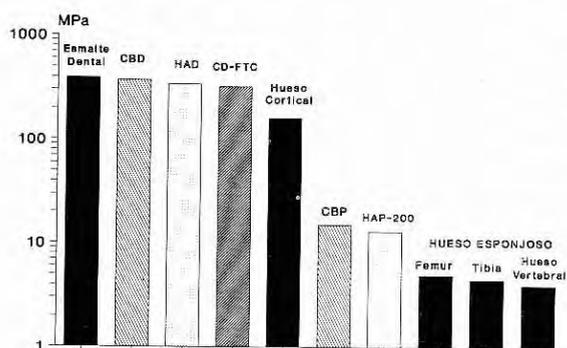


Figura 2. Resistencia a la compresión de los biomateriales CORALINA y de diferentes estructuras óseas y dental humana CBD - Coral bioactivo denso. HAD - Hidroxiapatita densa. CD-FTC - Cerámicas densas de fosfato tricálcico. CBP - Coral bioactivo poroso. HAP-200 - Hidroxiapatita porosa.

En un estudio sobre 379 pacientes con más de 2 años de evolución, implantados con hidroxiapatita porosacoralina HAP-200 en cirugía endobucal para el relleno de cavidades óseas, defectos periodontales, tratamientos alveolares y otras, se ha reportado un 97% de éxito en las reparaciones, con una rápida cicatrización y una perfecta osteointegración radiográfica de los implantes (figura 3), sin observarse respuestas locales o generales adversas. Los casos de fracasos de los implantes están asociados a deficiencias en el tratamiento quirúrgico y exfoliación de partículas. En general la aplicación de este producto se ha extendido a varias especialidades médicas con resultados altamente satisfactorios (figura 4).

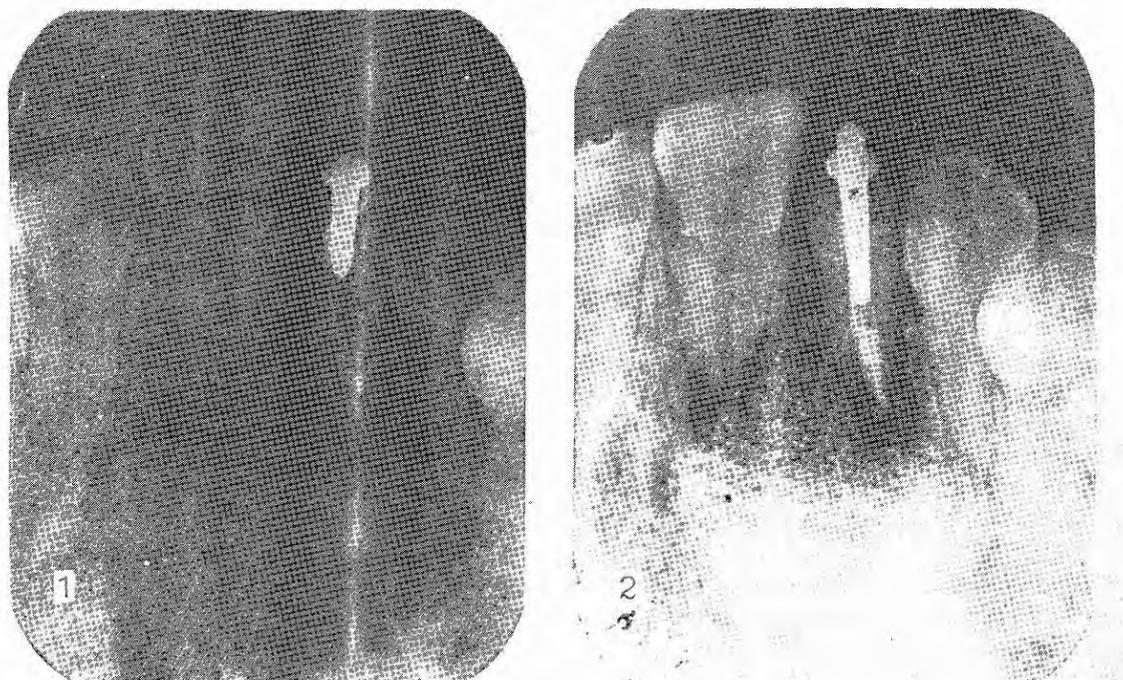


Figura 3. Tratamiento de un quiste periapical con granulado de hidroxiapatita porosa HAP-200. 1) Radiografía antes de la operación, 2) Imagen radiográfica 6 meses después de la implantación (cortesía de la Dra. B. Beauballet).

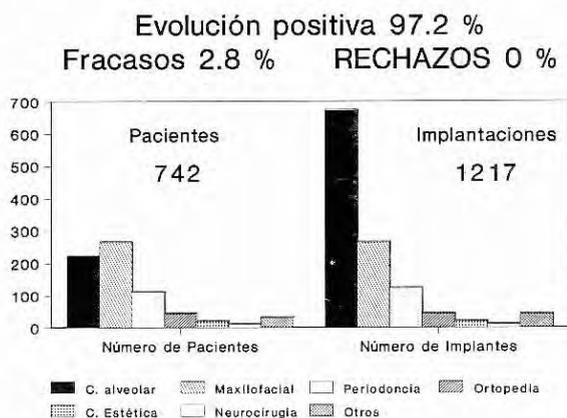


Figura 4. Experiencias clínicas empleando hidroxiapatita coralina en diferentes especialidades médicas en 14 hospitales y clínicas de la ciudad de La Habana durante los últimos 3 años.

Las ventajas del uso de la hidroxiapatita en odontología se pueden resumir en los siguientes aspectos:

- a. Alta biocompatibilidad.
- b. Ausencia de respuesta inmunológica
- c. Posibilidad del uso de anestesia local durante su implantación.
- d. Bajo riesgo de infección.
- e. Bajo riesgo de hiperestesia permanente.
- f. Ausencia de significativa reabsorción.
- g. Alto porcentaje de buenos resultados.
- h. No es imprescindible una perfecta higiene oral por parte del paciente.
- i. Disponibilidad .

INVESTIGACIONES ACTUALES EN NUEVOS MATERIALES

Una de las limitaciones más importantes de las cerámicas de fosfato de calcio consiste en su escasa resistencia mecánica para la fabricación de prótesis o dispositivos médicos de dimensiones mayores (tabla 1). En este caso se está prestando gran atención al desarrollo de materiales consistentes en implantes metálicos con recubrimientos de hidroxiapatita, donde se combina la gran resistencia del metal con la alta biocompatibilidad de la cerámica en contacto con el hueso. En este sentido no hay aún suficientes experiencias clínicas. Se ha informado la fabricación de una prótesis de fémur que está en evaluación clínica y algunas prótesis dentales (44).

Por otro lado, las excelentes propiedades biomecánicas del hueso se deben a una adecuada combinación y distribución de la parte orgánica (colágeno) y la parte mineral (fosfato de calcio o apatita biológica) en la matriz natural, por lo que los científicos de los biomateriales han dirigido su atención hacia los polímeros naturales y artificiales que ligados a los fosfatos de calcio aporten biomateriales con propiedades químicas, físicas y biomecánicas más similares al hueso, y que al mismo tiempo ofrezcan otras ventajas de índole práctica como adherencia, moldeabilidad, etc. (45-50).

Otro aspecto importante que ha merecido la atención en la búsqueda de los biomateriales ideales para la sustitución de huesos, está relacionado con la necesidad de incorporar materiales osteogénicos, es decir, no basta con la propiedad osteoconductora de las cerámicas de fosfato de calcio, sino que son necesarias también las sustancias promotoras y aceleradoras del crecimiento del nuevo hueso. En este sentido se trabaja intensamente con dos tipos de compuestos naturales: 1) la matriz del hueso desmineralizado que contiene las sustancias osteogénicas naturales del hueso (51-57) y 2) las proteínas morfogenéticas del hueso, que han sido aisladas de distintos tipos de hueso y se ha avanzado en su identificación y caracterización (58-65).

Actualmente se realizan investigaciones preclínicas con estas sustancias incorporadas a las distintas cerámicas de fosfato tricálcico (51, 66-68).

AREAS RECOMENDADAS PARA LA INVESTIGACION MULTIDISCIPLINARIA

Los significativos avances obtenidos en los últimos años en el desarrollo de biomateriales de fosfato de calcio como sustitutos del injerto en la reparación del tejido óseo, determinan la necesidad de profundizar y avanzar en las investigaciones multidisciplinarias con el objetivo de estudiar a fondo el comportamiento *in vivo* de estos materiales y perfeccionar sus cualidades (69).

Los aspectos recomendados para la investigación son los siguientes:

1. Estudio comparativo del comportamiento clínico de las cerámicas de fosfato de calcio sobre la base de su composición (HA, β -TCP, mezclas HA- β TCP, HA coralina, bioglass) y sobre la base de su forma física (partículas, bloques, densos, porosos) de la misma cerámica.
2. Investigación de los procesos químicos y/o celulares involucrados en la bioreabsorción de los materiales de fosfato de calcio desde niveles químicos y ultraestructurales.
3. Investigación de la naturaleza y mecanismos de la formación de la interfase hueso-implante.
4. Estudios sistemáticos sobre los factores que afectan la reabsorción y los factores osteoinductores y osteoconductores de los biomateriales de fosfato de calcio.
5. Caracterización de los recubrimientos de fosfato de calcio sobre implantes metálicos. Determinación de los efectos de los procedimientos de deposición de la cerámica (atomización de plasma, electrólisis o bombardeo iónico) sobre la composición del depósito y sus propiedades.

6. Desarrollo de nuevos materiales de fosfato de calcio ej: HA sustituidas, β -TCP sustituidas, mezclas de composición variable de HA-TCP, materiales compósitos o compuestos de HA-polímero, HA-colágeno, HA-sustancias osteoinductoras.

CONCLUSIONES

Como se puede apreciar, la ciencia de los biomateriales es una disciplina aún muy joven si se compara con otras esferas del saber y de la actividad humana. Sin embargo, el desarrollo de materiales artificiales (o sintéticos) de fosfato de calcio destinados a la cirugía reconstructiva del tejido óseo y dental humano ha demostrado que estos tipos de compuestos son los que mejores resultados han tenido en su aplicación clínica y por tanto los más promisorios. El estudio de los mismos comenzó apenas hace unos 25 años, su aplicación clínica no ha cumplido aún los 20 años y su aparición en el mercado data de hace sólo poco más de una década, todo lo cual demuestra que éste es un campo de investigación que recién ha comenzado y de amplias perspectivas futuras.

El carácter multidisciplinario de la investigación científica en el desarrollo de estos biomateriales es su principal factor de éxito.

Las ciencias de los materiales deben ser capaces de aportar productos muy bien estudiados desde el punto de vista químico, estructural, biomecánico, etc., que garanticen su empleo seguro y que ofrezcan soluciones tecnológicas que disminuyan los costos de producción.

Las investigaciones preclínicas, tanto *in vitro* como en modelos animales, son un factor decisivo no sólo para asegurar y avalar el uso clínico posterior, sino para estudiar y esclarecer los aspectos que tienen que ver con la interacción del tejido vivo-implante.

Finalmente, desde luego, y no menos importante, las investigaciones y evaluaciones clínicas a corto, mediano y largo plazo garantizan la confiabilidad y seguridad de estos biomateriales.

SUMMARY

This report deals with the development and current status of the calcium-phosphate ceramics, which have a great potential as bone substitute for dental and medical applications.

Based on reports from the literature and the current experience with the biomaterials of calcium phosphate produced in Cuba, several areas for the basic and clinical research are discussed and also the future development.

REFERENCIAS

1. **Albee FH.** Studies in bone growth. Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. *Ann Surg* 1920; 71: 32.
2. **Levitt GE, Crayton PH, Monroe EA, et al.** Forming methods for apatite prosthesis. *J Biomater Res* 1969; 3: 683.
3. **Monroe ZA, Votawa W, Bass DB, et al.** New calcium phosphate ceramic material for bone and tooth implants. *J Dent Res* 1971; 50: 860.
4. **Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, et al.** Bonding mechanism at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomater Res* 1971; 2: 117.
5. **Clarke WJ, Driskell TD, Hassler CR, et al.** Calcium phosphate resorbable ceramics, a potential alternative to bone grafting. *IADR* 1973; Prog Abs 52: Abstr 259.
6. **Levin MP, Getter L, Cutright DE, et al.** Biodegradable ceramics in periodontal defects. *Oral Surg* 1974; 38: 344.
7. **Hubbard W.** Physiological calcium phosphates as orthopedic implant material. Ph. D. Thesis, Marquette University, USA.
8. **Roy DM, Linnehan SA.** Hydroxyapatite formed from coral skeleton carbonate by hydrothermal exchange. *Nature* 1974; 247: 220.
9. **White RA, Weber JM, White EW.** Replamineform: A new process for preparing porous ceramic, metal and polymer prosthetic materials. *Science* 1972; 176: 187.
10. **Nery EB, Lynch KL, Hirthe WM, et al.** Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J Periodont* 1975; 46: 328.
11. **Jarcho M.** Hydroxyapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline forms. *J Mater Sci* 1976; 11: 2027.

12. **Jarcho M, Salisbury RL, Thomas MB, et al.** Synthesis and fabrication of tricalcium phosphate ceramic for potential prosthetic application. *J Mater Sci* 1979; 14: 142.
13. **Jarcho M.** Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthoped* 1981; 157: 259.
14. **Jarcho M.** Biomaterials aspects of calcium phosphates: properties and applications. *Dent Clin N Am* 1986; 30: 25.
15. **Denissen HW, de Groot K.** Immediate dental root implants form synthesis dense calcium hydroxyapatite implants. *J Prosthet Dent* 1979; 42: 551.
16. **De Groot K, Ducheyne P.** In vivo surface activity of hydroxyapatite alveolar bone substitute. *J Biomed Mater Res* 1981; 15: 441.
17. **De Putter C, de Groot K, Sillevs-Smitt PAE.** Implants of dense hydroxyapatite in prosthetic dentistry In: *Clinical applications of biomaterials*. New York: J Wiley and sons, 1982; 123-131.
18. **De Groot K.** Ceramic of calcium phosphates: preparations and properties in: *bioceramics of calcium phosphate*, ed. K de Groot. Boca Raton, FL: CRC Press 1983; 100-114.
19. **Klein CP, Dreissen AA, de Groot K.** Relationship between the degradation behavior of calcium phosphate ceramics and their physical-chemical characteristics and ultrastructural geometry. *Biomaterials* 1984; 5: 157.
20. **Klein CP, de Groot K, Dreissen AA, et al.** Interaction of biodegradable β -Whitlockite ceramics with bone tissue: an in vivo study. *Biomaterials* 1985; 6: 189.
21. **Klein CP, de Groot K, Dreissen AA, et al.** A comparative study of different β -Whitlockite ceramics in rabbit cortical bone with regard to their biodegradation behavior. *Biomaterials* 1986; 7: 144.
22. **Shimazaki K, Mooney V.** Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute. *J Orthop Res* 1985; 3: 301.
23. **Bower GM, Vargo JW, Levy B, et al.** Histologic observations following the placement of tricalcium phosphate implants in human intrabony defects. *J Periodontol* 1986; 57: 286.
24. **Tracy DM, Doremus R H.** Direct electron microscopy studies of the bone - hydroxyapatite interface. *J Biomed Mater Res* 1984; 18: 719.
25. **Shibuya T, Takeuchi H, Ono M.** Bonding behavior between two bioactive ceramics in vivo. *J Biomed Mater Res* 1987; 21: 1109.
26. **Uchida A, Kurisaki E, Ono K.** The use of bioactive ceramics for bone tumor surgery In: Yamamuro T, Hench LL, Wilson J., eds ,CRC handbook of bioactive ceramics. Volumen II: Calcium phosphate and hydroxyapatite ceramics. Boca Ratón: CRC Press 1990; 341-344.
27. **White E, Shors EC.** Biomaterial aspects of interpore-200 porous hydroxyapatite. *Dent Clin N Am* 1986; 30: 49.
28. **González R, Melo MC.** Método de obtención de hidroxiapatita a partir de corales marinos RPI No. 135-1989. ONIITEM, Cuba.
29. **González R, Melo MC, Martínez N.** Método de obtención de materiales biocompatibles a partir del carbonato de calcio natural RPI No. 42- 1992, ONIITEM, Cuba.
30. **LeGeros RZ, Parsons JR, Daculsi G, et al.** Significance of the porosity and physical chemistry of calcium phosphate ceramic: biodegradation-bioresorption. *Ann N Y Acad Sci* 1988; 523: 268.
31. **Klein CPAT, Dreissen AA, de Groot K, et al.** A biodegradation behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue. *J Biomed Mater Res* 1983; 17: 769.
32. **Eggl PS, Mttler W, Schenk RK.** Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two diferent pore size ranges implanted in the cancellous bone in rabbits. *Clin Orthop* 1988; 232: 127.
33. **Boretos JW.** Advances in bioceramic. *Adv Ceram Mat* 1987; 2: 15.
34. **Metsger DS, Drisken TD, Paulsrud JR.** Tricalcium phosphate ceramics-a resorbable bone implant: review and current status. *JADA* 1982; 105: 1035.
35. **Holmes RE, Shors EC, Kopchok G.** Effect of implant biodegradation rate on bone repair. *Trans Soc Biomat* 16th Ann Mtg 1990; 13: 290.
36. **Damien CJ, Russell JP.** Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomat* 1991; 2: 187.
37. **Barney VC, Levin MP, Adams DF.** Bioceramic implants in surgical periodontal defects: a comparison study. *J Periodontol* 1986; 57: 764.
38. **Socarrás E.** Evaluación clínica de hidroxiapatita porosa obtenida a partir de corales marinos. Tesis de Dr en C. Médicas, C Habana, 1991.
39. **Holmes RE.** Bone regeneration within a coralline hydroxyapatite implant. *Plast Reconst Surg* 1979; 63: 626.
40. **Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE.** Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitute. *Orthop Clin N Amer* 1987; 18: 323.
41. **Grote JJ, van Blitterswijk CA, Kuijpers W.** Hydroxyapatite ceramic as middle ear implant material:

- animal experimental results. *Ann Otol Rhinol Laryngol (Suppl)* 1986; 123: 1.
42. **González R, Handal E, Fernández J.** Cinética de transformación del coral a hidroxiapatita. *Química Nova* 1993, en prensa.
 43. **Daculsi G, Passuti N, Martín S, et al.** Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dogs. Clinical and histological study. *J Biomed Mater Res* 1990; 24: 379.
 44. **Geesink RGT.** Experimental and clinical experience with hydroxyapatite-coated hip implants. *Orthopedics* 1989; 12: 1239.
 45. **Zimmerman MC, Scalzo H, Parsons JR.** The attachment of hydroxyapatite coated polysulfone to bone. *J App Biomat* 1990; 1: 295.
 46. **Gongloff RK, Montgomery CK.** Experimental study of the use of collagen tubes for implantation of particulate hydroxyapatite. *J Oral Maxillofac Surg* 1985; 43: 845.
 47. **Gongloff RK, Whitlow W, Montgomery CK.** Use of collagen tubes for implantation of hydroxyapatite: an experimental study. *J Oral Maxillofac Surg* 1985; 43: 570.
 48. **Lemons JE, Matukas VJ, Niemann KMW.** Synthetic hidroxyapatite and collagen combinations for the surgical treatment of bone. *Biomedical Engineering*. New York: Pergamon Press, 1984; 13-16.
 49. **Tender AF, Mooney V, Brown KL, et al.** Compressive properties of polymer coated synthetic hydroxyapatite bone grafting. *J Biomed Mater Res* 1985; 19: 957.
 50. **Lin TC, Krebs S.** Synthetic bone composite material. *Trans Soc Biomat* 12th Ann Mtg 1986; 9: 207.
 51. **Kawamura M, Iwata H, Sato Miura T.** Chondroosteogenic response to crude bone matrix proteins bound to hydroxyapatite. *Clin Orthop* 1987; 217: 281.
 52. **Johnson EE, Urist MR, Finerman GAM.** Distal metaphyseal tibial nonunion: deformity and bone loss treated by open reduction, internal fixation, and human bone morphogenetic protein (hBMP). *Clin Orthop* 1990; 250: 234.
 53. **Reddi AH.** Age-dependent decline in extracellular matrix-induced local bone differentiation. *Ist J Med Sci* 1985; 21: 312.
 54. **Urist MR, Delange RJ, Finerman GAM.** Bone cell differentiation and growth factors. *Science* 1983; 220: 680.
 55. **Nogami H, Urist MR.** A substratum of bone matrix for differentiation of mesenchymal cells into chondroosseous tissues in vitro. *Exper Cell Res* 1970; 63: 404.
 56. **Prewett AB, O'Leary RK, Damien CJ, et al.** Pre-treatment sterilization of cadaver bone maintains osteoinductive properties. *Trans Amer Soc Bone Miner Res*, 12th Ann Mtg 1990; 5: S230.
 57. **Gendler E.** Perforated demineralized bone matrix: a new form of osteoinductive biomaterial. *J Biomed Mater Res* 1986; 20: 687.
 58. **Kawamura M, Urist MR.** Induction of callus formation by implants of bone morphogenetic protein and associated bone noncollagenous proteins. *Clin Orthop* 1988; 236: 240.
 59. **Takahashi S, Urist MR.** Differentiation of cartilage on three substrata under the influence of an aggregate of morphogenetic protein and other bone tissue noncollagenous proteins (BMP/iNCP). *Clin Orthop* 1986; 207: 227.
 60. **Lidholm TC, Lindholm TS, Alitalo I, et al.** Bovine bone morphogenetic protein (bBMP) induced repair of skull trephine defects in sheep. *Clin Orthop* 1988; 227: 265.
 61. **Makahara H, Takaoka K, Koezuka M, et al.** Periosteal bone formation elicited by partially purified bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 1989; 239: 299.
 62. **Luyten FP, Cunningham NS, Ma S, et al.** Purification and partial amino acid sequence of osteogenin, a protein initiating bone differentiation. *J Biol Chem* 1989; 264: 13377.
 63. **Sampath TK, Muthukumar N, Reddi AH.** Isolation of osteogenin and extracellular matrix-associated, bone-inductive protein, by heparin affinity chromatography. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 7109.
 64. **Nilsson OS, Urist MR, Dawson EG, et al.** Bone repair induced by bone morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. *J Bone Jt Surg* 1986; 68: 635.
 65. **Sato K, Urist MR.** Bone morphogenetic protein-induced cartilage development in tissue culture. *Clin Orthop* 1984; 183: 180.
 66. **Frame JW, Rout PGJ, Browne RM.** Ridge augmentation using solid and porous hydroxyapatite particles with and without autogenous bone or plaster. *J Oral Maxillofac Surg* 1987; 45: 771.
 67. **Miller TA, Ishida K, Kobayashi M, et al.** The induction of bone by an osteogenic protein and the conduction of bone by porous hydroxyapatite: A laboratory study in the rabbit. *Plastic Reconst Surg* 1991; 87: 1.
 68. **Urist MR, Nilsson O, Rasmussen J, et al.** Bone regeneration under the influence of a bone morphogenetic protein (BMP)-B tricalcium phosphate (TCP) composite in skull trephine defects in dogs. *Clin Orthop*, 1987; 214: 295.
 69. **LeGeros RZ.** Calcium phosphate materials in restorative dentistry: A review. *Adv Dent Res* 1988; 2: 164.