

Biocompatibilidad de materiales

María Cristina Piña Barba

*Instituto de Investigaciones en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México
Apartado postal 70-360, 04510 México D.F., México*

Recibido el 27 de febrero de 1998; aceptado el 26 de mayo de 1998

Se presenta una breve descripción de qué son y en qué se emplean los biomateriales. Se discuten algunas definiciones del concepto de biomaterial. Se describe el concepto de biocompatibilidad y de biofuncionalidad. Se mencionan las pruebas fisico-químicas obligatorias para los biomateriales y las pruebas biológicas *in vivo* e *in vitro* para determinar cito y genotoxicidad. Se citan los materiales más comunes en las aplicaciones médicas.

Descriptores: Biomaterial; biocompatibilidad; biofuncionalidad

A shortly description about biomaterials and their employment in medical applications is given. A discussion about definition of biomaterials concept is presented. The biocompatibility and biofunctionality concepts are summarized. The required chemical and physical tests for biomaterials and biological tests *in vitro* and *in vivo* to determine cyto and genotoxicity are named. Very common materials with medical applications are mentioned.

Keywords: Biomaterial; biocompatibility; biofunctionality

PACS: 80.81, 81.05, 80.87

1. Introducción

Los materiales empleados en la reconstrucción del cuerpo humano son fundamentalmente de dos tipos, por así llamarlos: materiales (comunes) y biomateriales. Los primeros se emplean en la gran mayoría de equipo médico y en la manufactura de órtesis, como son las piernas o brazos artificiales, los anteojos, las férulas, etc. Los biomateriales se emplean cuando el material debe estar en contacto directo con fluidos fisiológicos o tejidos biológicos, fuera o dentro del cuerpo humano, como es el caso de las mangueras de los equipos de diálisis, las prótesis de cabeza de fémur, el corazón artificial, las lentes intraoculares, los clavos y placas ortopédicas, entre otros, en la Fig. 1 se ilustran algunas de las aplicaciones que pueden tener dentro del organismo.

Los materiales que estén en contacto con los fluidos y/o tejidos corporales, con el objeto de reconstruir, promover la reconstrucción, substituir o ayudar al buen funcionamiento de algún órgano o tejido, deben cumplir con ciertos requisitos mínimos, como por ejemplo, el no ser tóxico para el organismo, ya que si se busca ayudar en la solución de un problema no se debe provocar otro que pudiera ser mayor.

2. Historia

Durante la segunda guerra mundial, buscando ayudar a jóvenes combatientes, se emplearon mangueras de hule y tela para substituir al esófago y la faringe, obteniendo resultados favorables a muy corto plazo, pero desfavorables a pocos días de haber sido colocados ya que las mangueras no soportaban dobleces y terminaban por romperse. Esto provocó que se co-

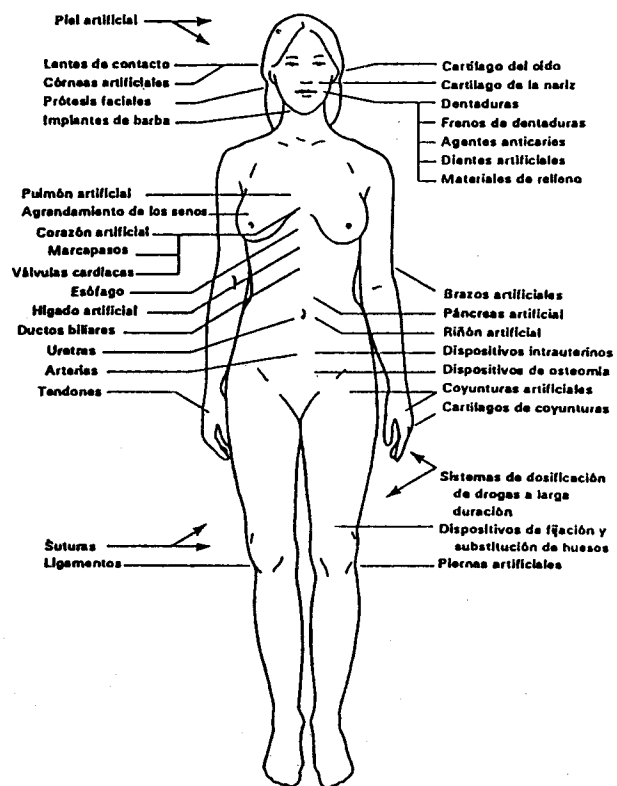


FIGURA 1. Areas donde se han implantado biomateriales en los humanos.

menzara un estudio serio, por parte de médicos e ingenieros de los países que más jóvenes mandaron a la guerra.

Desde entonces, los materiales que han sido empleados en reconstrucciones de algunos órganos o tejidos del cuerpo,

parcial o totalmente como venas, arterias, huesos, músculos, piel, etc., se han incrementado tanto en número como en variedad. También ha sucedido que las condiciones clínicas para las que se recomienda su uso han variado enormemente. Este crecimiento no ha sido fácil, al contrario, ha estado lleno de problemas cada vez más difíciles de resolver, pero sumamente interesantes, mostrando un reto para la capacidad de entendimiento del ser humano.

Es claro que en la mayor parte de los casos, lo mejor para la reconstrucción del organismo es lo que produce el propio organismo, sin embargo es necesario el desarrollo de biomateriales debido a que el organismo no produce lo que necesita a la velocidad que se requiere. Si se nos rompe un hueso, el organismo lo repara pero quizá le tome años la tarea. Otro tipo de problema es que no exista la posibilidad de reparación, los errores genéticos conllevan este tipo de problemas, como ocurre cuando el corazón no funciona adecuadamente y hay que cambiarlo, para lo cual es necesario contar con los materiales adecuados.

Actualmente existe la denominada Ciencia de los Materiales, que sería la encargada de desarrollar biomateriales para la reconstrucción del organismo, sin embargo ha sido tan complicado el entender, probar y en su caso desarrollar un material adecuado que se ha especializado aún más, generando la Ciencia de los Biomateriales. Para llevar a cabo el estudio completo de un biomaterial, es necesario comprender los fenómenos tanto biológicos como físicos que se desencadenan debido a la interacción entre el material y los tejidos.

3. Definición

Es difícil definir qué es un biomaterial, actualmente está abierta la discusión a nivel mundial entre personas que se han dedicado a esto durante mucho tiempo. Una de estas definiciones se debe a D.F. Williams [1]: *“Un biomaterial puede definirse como un material que se usa en el tratamiento de pacientes para el cual, las interfaces con el tejido circundante por un periodo significativo de tiempo hacen de la interacción entre el material y el tejido un factor importante para el tratamiento”*.

Cabe decir que la interacción entre los materiales conocidos por el hombre y los tejidos del cuerpo humano ha sido de vital importancia para la sobrevivencia de nuestros antepasados quienes ya conocían muchos remedios herbolarios para curar heridas y evitar dolores y que aún ahora se siguen empleando en muchos lugares del mundo, remedios que nada tienen que ver con la tecnología moderna, como el uso de la miel de abeja para cerrar heridas, las hojas de sábila para curar yagas, lodo para soldar huesos, etc.

Otra definición de biomaterial más completa se debe a D. Muster [2]: *“El término biomaterial se emplea para designar materiales extraños al receptor, de origen natural o artificial, los cuales son implantados en un organismo viviente (hombre, animal) para restaurar la morfología y/o funciones de tejidos u órganos alterados por trauma, malformaciones o enfermedades degenerativas. Su característica principal es*

que deben funcionar bajo constricciones biológicas. Se diferencian de los fármacos en que no limitan su principal objetivo terapéutico a un efecto químico en el organismo y no necesitan ser metabolizados para estar activos”.

Actualmente se discute si los materiales deben o no ser hechos por el hombre, aunque su origen sea natural, como es el caso de la piel artificial a partir de piel de neonato en cultivos celulares o el caso de los órganos artificiales desarrollados a partir de células no diferenciadas.

Parte de la complicación en la definición de un biomaterial es el tipo de funciones que debe desarrollar y bajo qué condiciones. La presencia dentro del organismo de un material ajeno a él, desencadena una serie de reacciones cambiando las propiedades de éste, lo cual a su vez produce nuevos cambios en el organismo. Esto no sólo afecta a nivel local al organismo, lo afecta en su totalidad por ser un ser integral. Al estudio de estas interacciones se le conoce actualmente como estudio de la biocompatibilidad y no puede quedar aislado de la definición de biomaterial.

4. Biocompatibilidad

Siempre se ha sabido que es muy importante la interacción entre los materiales y los tejidos del organismo, de hecho es esto lo que determina la utilidad del material en el uso que se le asigna. Al estudio de esta interacción se le conoce como estudio de biocompatibilidad. El estudio de la biocompatibilidad de un material ha ido creciendo en el tiempo, de modo que actualmente es una ciencia interdisciplinaria que abarca desde los fenómenos físicos involucrados en la interacción con el tejido hasta los resultados clínicos visibles.

La biocompatibilidad ha sido definida como el estado de coexistencia mutua entre un biomaterial y el ambiente fisiológico, de modo tal que ninguno tenga un efecto indeseable por la existencia del otro. [1]

Hoy en día la biocompatibilidad no se define sólo como la ausencia de reacciones tóxicas, sino como el control permanente de las influencias recíprocas entre el organismo y el implante [2].

Hay dos aspectos fundamentales de biocompatibilidad:

- a) Los efectos sobre el material.
- b) Los efectos sobre los tejidos.

De modo que la biocompatibilidad de materiales metálicos está controlada por la interacción electro-química que resulta de la liberación de los iones metálicos, o en algunos casos, de partículas insolubles en el tejido, y la toxicidad de estas sustancias liberadas.

Similarmente, la biocompatibilidad de los polímeros, al menos en el contexto de la respuesta de tejido suave, está en gran medida, controlada por la forma en la cual los fluidos fisiológicos que rodean al material extraen monómeros residuales, aditivos y productos de degradación.

Estudiar biocompatibilidad es necesario fundamentalmente por razones de sobrevivencia, pero siendo menos drásticos, simplemente por garantizar que el material está

funcionando como deseamos que lo esté, cada una de sus características determina el tipo de prueba que se debe llevar a cabo, por ejemplo: Deseamos determinar si un material X es adecuado para usarse como sustituto de hueso. Esto implica que va a estar colocado en el interior del cuerpo, en contacto con uno ó más huesos, por lo que es necesario comprobar que no causa toxicidad en los huesos ni en los tejidos aledaños, no es cancerígeno, no es mutagénico. Así también, que el material tenga las características en resistencia mecánica, dureza, forma, etc. mejores que las del hueso o al menos iguales, que los productos de corrosión del material debido a la presencia del ambiente fisiológico no causan problemas secundarios, que el material no se modifique perdiendo sus cualidades físicas por la absorción de proteínas en su caso (polímeros), que la interacción de la sangre con el material no genere coágulos, que el implante no presente ningún tipo de habilidad para generar tumores en el organismo, etc. Cada uno de estos problemas amerita un estudio particular, el cual, por tratarse de tejidos vivos implica periodos de tiempo que van desde unas horas hasta varios años. Implica también el trabajar con un gran número de muestras y diferentes técnicas. Finalmente, hay que recordar que cada individuo es un ser particular, único, y que si el material X ha sido aceptado por 1000 individuos no necesariamente el próximo lo aceptará, lo único que se puede asegurar es que existe una gran probabilidad de que lo haga.

En los países del Primer Mundo, en donde este tipo de materiales se han desarrollado desde hace tiempo, se exigen una serie de pruebas para todos los productos de uso médico, que hacen que algunos materiales tarden en darse a conocer al público 10, 12 ó más años. En países como el nuestro, esto no es usual debido a que la investigación necesaria para dichos productos no se lleva a cabo aquí por falta de recursos de todo tipo. Hasta ahora se ha preferido importar estos productos aún en detrimento de la economía y la consecución del subdesarrollo. Lo más grave de esto es que por falta de conocimiento aceptamos todos los productos que nos venden sin poder determinar si nos son útiles, si son tóxicos o no, si son suficientes y adecuados, etc. Basta decir que en México no existe ninguna legislación que nos proteja de los productos médicos, fármacos, implantes, prótesis, etc. En mal estado o mal administrados.

Existen experimentos diseñados para proporcionar un mayor conocimiento de los mecanismos de biocompatibilidad, que pueden incluso resultar necesarios para investigar las bondades de los materiales que se seleccionan como biomateriales potenciales. Llamamos biomateriales potenciales a aquellos materiales de los que conocemos sus características físico químicas más importantes para su aplicación dentro de lo que buscamos substituir y a los que se les ha sometido a pruebas in vitro de cultivos celulares para evaluar tanto la citotoxicidad como la genotoxicidad, o bien pruebas in vivo en donde se valora la reacción del tejido al implante, estas pruebas son llamadas pruebas de cernimiento (screening), que de alguna forma implican un mínimo de valoración biológica a periodos cortos de tiempo.

En cualquier estudio de biocompatibilidad es necesario caracterizar el material bajo investigación, lo más ampliamente posible, abajo listamos algunas de las características físico químicas de los materiales que deben ser determinadas en los estudios de biocompatibilidad.

1. Fuerza de enlace entre los materiales de restauración y la estructura dental.
2. Dureza de Brinell, de Vickers, de Knoop, o de Mohs.
3. Coeficiente de fricción.
4. Intervalo de colores de los dientes naturales.
5. Ángulo de contacto.
6. Fractura de amalgamas.
7. Tensión superficial crítica.
8. Densidad.
9. Módulo dinámico
10. Módulo elástico.
11. Fluidez.
12. Calor de fusión.
13. Calor de reacción.
14. Resistencia al impacto IZOD.
15. Índice de refracción.
16. Temperaturas de fusión e intervalos.
17. Coeficiente de penetración.
18. Porcentaje de elongación.
19. Razón de Poisson.
20. Límite proporcional.
21. Presión de vapor.
22. Viscosidad.
23. Absorción de agua.
24. Potencial Zeta.
25. Resistencia a la deformación permanente.
26. Resistencia de corte.
27. Solubilidad y desintegración en agua.
28. Calor específico.
29. Esfuerzo de compresión.
30. Energía libre superficial.

TABLA I. Tabla de aparatos y sus aplicaciones y procedimientos de prueba aplicables para la biocompatibilidad.

Clasificaciones de materiales o aparatos y aplicaciones	Pruebas aplicables												
	Citotoxicidad cultivo celular	Irritación cutánea	Implantación intramuscular	Hemólisis	Compatibilidad sanguínea	Carcinogenicidad	Implantación período largo	Irritación de membrana mucosa	Toxicidad aguda inyección sistémica	Inyección intracutánea (irritación)	Sensibilización (alergia)	Mutagenicidad	Prueba de pirogenicidad
Aparatos externos (5.2)													
Superficies intactas		X									X		
Superficies	X	X							X	X	X		
Aparatos que comunican (5.3) externamente con:													
Canales naturales intactos								X			X		
Intraoperativos								X			X		
Periodo corto	X							X	X	X	X		
Crónico	X		X					X	X	X	X		
Fluidos y tejidos corporales													
Intraoperativos	X							X	X	X			X
Periodo corto	X		X					X	X	X			X
Crónico	X		X					X	X	X	X		X
Vía sangre indirecta			X	X	X				X	X	X		X
Vía sangre directa periodo corto			X	X	X				X	X	X		X
Vía sangre directa periodo largo			X	X	X				X	X	X		X
Aparatos implementados (5.4) contactando principalmente con:													
Hueso	X					X	X		X		X	X	X
Tejido y fluidos	X		X			X	X		X	X	X	X	X
Sangre	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X

31. Tensión superficial.
32. Energía de rompimiento.
33. Deformación de ruptura.
34. Conductividad térmica.
35. Difusión térmica.
36. Esfuerzo transversal.
37. Esfuerzo último de compresión.
38. Esfuerzo último de tensión.

El cultivo de células de diferentes tipos para hacerlas interactuar con los materiales propuestos proporciona una gran

información. La reacción del sistema inmune a los biomateriales ha sido reconocido apenas en años recientes. Actualmente hay una gran necesidad de inmunólogos que se dediquen a esta área de la ciencia.

Uno de los puntos más controversiales respecto a biomateriales y su evaluación es respecto al área de carcinogenicidad y mutagenicidad. La valoración de la habilidad para formar tumores de un implante está aún en estudio. Los estudios de compatibilidad sanguínea, de absorción de proteínas por biomateriales, de la interacción sangre-material, de la corrosión por elementos fisiológicos del material y su interacción con el organismo, etc., son relevantes para la biocompatibilidad del material; en la Tabla I se muestra el tipo de pruebas requeridas para los diferentes materiales según su clasificación o aplicación, por ejemplo en el caso de querer substituir hueso, las pruebas requeridas internacionalmente hasta ahora, que debe pasar un material propuesto son: Cito-

toxicidad, carcinogenicidad, implantación por periodos largos de tiempo a niveles subcutáneo, muscular y óseo, toxicidad aguda por inyección sistémica, sensibilización, mutagenicidad, pirogenicidad, además de cubrir las características físico químicas mínimas para la sustitución del hueso. La biocompatibilidad, como se usa en este contexto, no sólo comprende la interacción de un material con tejido duro o blando del organismo, sino también su impacto en el sistema inmunológico; su efecto sobre la integridad del DNA; su reacción con la sangre y otros fluidos del cuerpo; su efecto sobre la homeostasis del animal completo; y los efectos que se producen no solo por el mismo material sino por los contaminantes que se ponen en contacto con el sistema viviente a través del uso de los materiales. Todo esto, constituye un estudio de biocompatibilidad del material, el cual en principio nos permite decir si el material en estudio es muy activo, activo, poco activo o inerte dentro del organismo.

Cabe aclarar que sólo estamos hablando del material, que no estamos aún involucrando su diseño como implante o como prótesis, lo cual es materia de estudio de la Bioingeniería. Para entender la importancia de ello pongamos por ejemplo que contamos con el mejor material del mundo para introducir en el organismo una pila que permitirá funcionar un marcapasos cardíaco, pero la caja que se diseña para la pila tiene los bordes afilados, esta caja naturalmente lacerará el tejido haciéndolo sangrar constantemente, produciendo a la larga alguna respuesta negativa del tejido, mientras que si la caja tiene los bordes romos el tejido no sangrará y no presentará una reacción negativa.

Hay otro concepto muy importante dentro del estudio de los biomateriales, y está relacionado con la función que se quiere que realice el material, llamada Biofuncionalidad.

5. Biofuncionalidad

El comportamiento funcional de un biomaterial se conoce como biofuncionabilidad y describe el comportamiento del material implantado en el organismo, lo que depende entre otros factores de: forma, uso, fatiga, fractura, fijación, reacciones tisulares, corrosión, sobrecarga, etc.

La forma es un factor importante tanto en biocompatibilidad como en biofuncionabilidad. Un material en forma de polvo produce efectos completamente diferentes a los que produce el mismo material en forma de un sólido compacto.

Un biomaterial puede ser empleado en implantes y prótesis, para dosificación de medicamentos y como material de uso médico. Por ejemplo en el caso de implantes tenemos las placas y clavos ortopédicos, en prótesis podemos considerar las de cadera, de cabeza de fémur, el corazón artificial, etc. Como dosificadores de medicamentos están los parches poliméricos que regulan la dosificación de hormonas o de antibióticos, como material de uso médico están las mangueras de los equipos de diálisis y el hilo de sutura que puede o no ser biodegradable, entre otros miles de ejemplos.

5.1. Biomateriales metálicos más comunes

Existen tres aleaciones principales ampliamente usadas en aplicaciones de uso médico, tanto en equipo como en prótesis e implantes especialmente para la sustitución de tejido óseo: aleaciones de titanio, aceros inoxidable y aleaciones de cobalto. Todas ellas presentan ventajas y desventajas en su empleo, sin embargo y a pesar de todas sus desventajas son hasta ahora la mejor opción encontrada.

5.1.1. Aleaciones de Titanio

Sus propiedades mecánicas en general superan a las del hueso duro, tienen buena resistencia a la fatiga, a la corrosión, son ligeras en peso, cuando la superficie es porosa han mostrado adhesión del tejido óseo lo que representa la tolerancia del tejido biológico a estas aleaciones, sin embargo no son totalmente biocompatibles a largo plazo, ya que el tejido circundante presenta una coloración negra por la presencia de estas aleaciones, lo que implica que hay liberación de átomos o moléculas que se adentran en las células que rodean al implante y que se conoce como titanización del tejido. El organismo busca desechar todo este material liberado a través de diferentes vías, entre ellas, a través de los riñones que en un plazo de 15 a 18 años se ven seriamente afectados por este mecanismo.

Una de las aleaciones de Ti más populares en medicina es la llamada Nitinol (MR). Es una aleación de níquel y titanio que presenta la propiedad de memoria de forma, ha mostrado su efectividad en aplicaciones ortodónticas y se busca como aplicarla en stents, sistemas de crecimiento óseo, malformaciones congénitas del esqueleto, etc.

5.1.2. Aceros Inoxidables

Son materiales muy útiles en equipo médico, sin embargo el problema principal es la manufactura a nivel metalúrgico. Sus propiedades mecánicas son inferiores a las aleaciones de titanio o en base a cobalto, sin embargo su costo permite que se les emplee con mucho mayor frecuencia. Para el caso de implantes y prótesis deben emplearse aleaciones de muy bajo contenido de carbón como son los aceros 316 y 316L para evitar al máximo el problema de la corrosión, lo que además de reducir su resistencia mecánica causa cambios indeseables en el organismo. Para materiales de uso médico estos deben tener el mínimo de impurezas, debido a que estas promueven la corrosión y quedan iones liberados en el organismo que a largo plazo generan tumores malignos.

5.1.3. Aleaciones de Cobalto

Gracias a la tecnología moderna, se producen de muchas formas por fundido o forjado. Presentan gran resistencia a la corrosión y gran compatibilidad con el tejido biológico. Su costo las hace poco accesibles.

6. Biomateriales hechos de polímeros sintéticos

Las diversas propiedades químicas y físicas de los polímeros nos llevan a considerarlos para sus aplicaciones como biomateriales.

Por su bajo módulo de elasticidad y su naturaleza viscoelástica no se recomienda que se empleen para soportar carga. Es prácticamente imposible alcanzar una polimerización del 100%, por lo que es difícil obtener un polímero grado médico puro, libre de aditivos. En un ambiente fisiológico la liberación de los componentes puede llevar a procesos tóxicos, alérgicos o carcinogénicos.

Los elastómeros más ampliamente usados como biomateriales han sido los silicones. Aunque el dimetil polisiloxano altamente purificado es valioso desde el punto de vista mecánico por su elasticidad y biológico por su no toxicidad y ser químicamente inerte, reacciona con los componentes de la sangre, absorbe lípidos como colesterol y otros, favorece la adhesión de las plaquetas y dispara los procesos de coagulación.

El polimetilmetacrilato es otro polímero de uso médico, principalmente en oftalmología, cirugía ortopédica y cirugía dental. Quizá su principal virtud es la sencillez de su preparación, a temperatura ambiente, permitiendo su moldeo. Cuando la mezcla no se lleva a cabo perfectamente, por la presencia de monómeros se presentan serios problemas de biocompatibilidad. Otro de los problemas que presenta es que la reacción que presenta en su formación es exotérmica provocando necrosis del tejido óseo adyacente.

Polietileno, politetrafluoroetileno (PTFE) tienen muchos usos médicos. El PTFE-carbón o Dacrón poliuretano ha mostrado resultados impactantes en cirugía reconstructiva.

7. Biomateriales cerámicos

Las cerámicas presentan un alto grado de biocompatibilidad, sin embargo, presentan algunos problemas en su manufactura debidos a sus propiedades mecánicas que no los hacen aptos para soportar carga. Existen cerámicas bioactivas y cerámicas inertes, ambas tienen aplicaciones interesantes en el organismo, aunque se ven limitadas por sus propiedades mecánicas.

Cerámicas inertes. Entre las cerámicas inertes, las de alta porosidad se emplean para facilitar el crecimiento del tejido después de la implantación como por ejemplo la hidroxiapatita porosa, que funciona muy bien para determinados tamaños de poro en el crecimiento óseo.

Otras cerámicas llaman su atención por su inestabilidad y su habilidad para degradarse en ambientes fisiológicos, están basadas casi siempre en sales de calcio, especialmente compuestos fosfatos de calcio. Por supuesto es especialmente importante la biocompatibilidad de los materiales degradables, y es importante que cuenten con una analogía con los tejidos biológicos sanos como es el caso de los fosfatos y las apatitas cuando se trata de tejido mineralizado.

7.1. Biomateriales basados en carbón

El carbón es potencialmente el material más biocompatible de todos, los materiales de estructuras de carbón se emplean en cirugía reconstructiva, en válvulas cardíacas, implantes dentales, electrodos percutáneos, y en general en todos los casos donde la respuesta del tejido sea de gran importancia.

Tres tipos de carbón se emplean especialmente como biomateriales: carbón vítreo, carbón pirolítico ó carbón LTI (Low Temperature Isotropic) y carbón ULTI (Ultra Low Temperature Isotropic). Los compuestos o composites de carbón constituyen una de las categorías más interesantes, ya que se cuenta con el alto grado de biocompatibilidad del carbón tanto para el tejido duro como para el tejido blando y con las propiedades mecánicas óptimas que se logran con los compuestos.

7.2. Biomateriales de origen natural

Hueso, cartílago, corales, colágena, maderas, etc., han sido empleados como biomateriales durante toda la historia del hombre, algunos como huesos alogénicos, preservados y desmineralizados y descalcificados o genogénicos han sido ampliamente estudiados para la reconstrucción de tejido óseo e incluso para la promoción de crecimiento del mismo. Los corales se han usado con mucho éxito hasta ahora, el secreto consiste en los tratamientos que deben dársele para eliminar las posibilidades de rechazo por el organismo.

1. D.F. Williams, in *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*. Vol. I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1981.)
2. D.F. Williams, in *Techniques of Biocompatibility Testing*, Vol. I, edited by David F. Williams, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1986) p. 1.
3. D.F. Williams, in *Fundamental Aspects of Biocompatibility*. Vol I, edited by D.F. Williams, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1981).
4. D. Muster, in *Biomaterials Degradation*, edited by M.A. Barbosa, (Elsevier Science Pub., New York, 1991) p. 1.
5. D.F. Williams, in *Biocompatibility of Orthopedic Implants*, Vol I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1982) p. 1.
6. Geoffrey H. Lord, in *Techniques of Biocompatibility Testing*, Vol I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1986) p. 5.
7. D.F. Williams, in *Biocompatibility of Orthopedic Implants*, Vol II, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida 1982.)
8. G. Meachim, and B. Pedley, in *Biocompatibility of Orthopedic Implants*, Vol I, edited by D.F. Williams, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1982) p. 107.
9. S.A. Brown, in *Biocompatibility of Orthopedic Implants*, Vol I,

- edited by D.F. Williams, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1982) p. 75.
10. D.F. Williams, in *Clinical Orthopedics in Biocompatibility of Orthopedic Implants*, Vol I, edited by David F. Williams, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1982) p. 231.
 11. Jurgen Breme and Hans Jorg Schmid, in *Osseo-Integrated Implants*, Vol. I, edited by Gunther Heimke, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1990).
 12. D.F. Williams, in *Fundamental aspects of Biocompatibility*, Vol II, edited by D.F. Williams, (CRC (Boca Raton, Florida, 1981).
 13. Annual Book of ASTM Standards, Vol. 13.01 Medical Devices, edited by American Society for Testing and Materials, (Philadelphia, PA. USA, 1991).
 14. D.F. Williams, in *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*, Vol. I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1981).
 15. Elliot J. Sutow and Solomon R. Pollack, in *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*, Vol. I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1981).
 16. D.F. Williams, in *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*, Vol. I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1981).
 17. Peter Griss and Gunther Heimke, in *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*, Vol. I, (CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1981).
 18. Robert M. Pilliar, in *Metal and Ceramic Biomaterials*, Vol. I, edited by Paul Ducheyne and Garth-W. Hastings, (CRC Press, Boca Raton, Florida, 1984).
 19. Jurgen Breme and Hans Jorg Schmid, in *Osseo-Integrated Implants*, Vol. I, edited by Gunther Heimke, (CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990).
 20. M. Jarchoet *et al.*, *J. Mat. Sci.* 11 (1976) 2027.
 21. K. Takikawa and M. Akao, *J. Mat. Sci. Mat in Med.* 7 (1996) 439.
 22. TH. Altankov, *Groth. J. Mat. Sci. Mat in Med.* 7 (1996) 425.
 23. Li. Yubao, C.P.A.T. Klein, Zhang Xingdong, and K. de Groot. *Biomat.* 15 (1994) 835.
 24. C. Piña *et al.*, *Memorias del XVII Congreso ANIAC*, Monterrey N.L., México, p. 262.
 25. M.A. Aguilar *et al.*, *Proceedings 3ed International Conference on Zn-Al Alloys*, edited by G.Torres-Villaseñor, Y.Zhu, and C.Piña, (UNAM, México, 1994) p. 201.
 26. J. Guzmán Rincón *et al.*, *Proceedings 3ed International Conference on Zn-Al Alloys*, edited by G.Torres-Villaseñor, Y.Zhu, and C.Piña, (UNAM, México, 1994) p. 195.
 27. N. Munguía *et al.*, "Determinación de Zn y Cu en sangre de ratas implantadas con Zinalco", *Revista de la Sociedad Química de México* 37 (1993) 23.
 28. C. Piña Barba, G. Hernández Medina y G. Torres Villaseñor, *Acta Microscopica* 2 (1993) 204.