



Investigación y Ciencia

ISSN: 1665-4412

ISSN: 2521-9758

revistaiyc@edu.uaa.mx

Universidad Autónoma de Aguascalientes

México

Lopez-Ortiz, Susana; Salado-Leza, Daniela
Hidroxiapatita y selenio: Protagonistas emergentes en la lucha contra el cáncer
Investigación y Ciencia, vol. 32, núm. 91, 2024
Universidad Autónoma de Aguascalientes
Aguascalientes, México

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67478488009>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de revistas científicas de Acceso Abierto diamante
Infraestructura abierta no comercial propiedad de la academia

Hidroxiapatita y selenio: Protagonistas emergentes en la lucha contra el cáncer

Hydroxyapatite and selenium: Emerging players in the fight against cancer

Susana Lopez-Ortiz*, Daniela Salado-Leza***

Lopez-Ortiz, S., & Salado-Leza, D. (2024). Hidroxiapatita y selenio: Protagonistas emergentes en la lucha contra el cáncer. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 32(91), e4268, <https://doi.org/10.33064/iycuaa2024914268>

RESUMEN

La hidroxiapatita sintética (sHap) es un material biomimético con propiedades remarcables; es biocompatible y biodegradable, por lo que es asimilado por el cuerpo humano. Además de sus conocidas aplicaciones en ingeniería de tejidos, la sHap ha mostrado ser una candidata prometedora para combatir el cáncer, actuando principalmente como una matriz para otros agentes terapéuticos. Presenta una estructura química con gran potencial para sustitución iónica con el objetivo de incrementar sus características y propiedades de manera sostenida, prolongada y dirigida contra el cáncer. La incorporación de elementos específicos, como el selenio (Se), coadyuva en la inhibición del crecimiento y propagación de células cancerosas, además de favorecer una respuesta inmunitaria y preventiva. Este documento es una revisión actual de los métodos de obtención de la sHap y su dopaje con Se. Discutimos aspectos de biocompatibilidad y citotoxicidad, además de su efecto documentado tanto en células sanas como cancerosas.

Palabras clave: hidroxiapatita; selenio; cáncer; nanopartículas; citotoxicidad; síntesis.

ABSTRACT

Synthetic hydroxyapatite (sHap) is a biomimetic material with remarkable properties; it is biocompatible and biodegradable, so it is assimilated by the human body. In addition to its known applications in tissue engineering, sHap have shown to be a promising candidate to combat cancer, acting mainly as a matrix for other therapeutic agents. It has a chemical structure with great potential for ionic substitution that increases its characteristics and properties in a sustained, prolonged and targeted manner against cancer. The incorporation of specific elements, such as selenium (Se), helps inhibit the growth and propagation of cancer cells, favors the immune response, and prevents metastasis. This document is a current review of the methods for obtaining

Recibido: 17 de abril de 2023, Aceptado: 23 de octubre de 2023, Publicado: 31 de enero de 2024

*Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Chapultepec No. 1570, Privadas del Pedregal, C. P. 78210, San Luis Potosí, S. L. P., México. Correo electrónico: sus0792lo@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4344-400X>

***Investigadoras e Investigadores por México, Conahcyt. Alcaldía Benito Juárez, C. P. 03940, Ciudad de México, México. Correo electrónico: daniela.salado@uaslp.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-0560>

✉ Autora para correspondencia

sHap and its doping with Se. We discuss aspects of biocompatibility and cytotoxicity, in addition to its documented effect on both healthy and cancer cells.

Keywords: hydroxyapatite; selenium; cancer; nanoparticles; cytotoxicity; synthesis.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es un grupo de enfermedades que pueden presentarse en la sangre, piel, órganos internos o glándulas del cuerpo. Existen más de 100 tipos distintos de cáncer, que por definición comparten ciertas características, pero que a su vez son diferentes entre sí. Se produce por la formación de células anormales en exceso, que iniciaron de una célula que pudo mutar por múltiples factores y sigue multiplicándose hasta formar lo que se conoce como tumor. A nivel mundial, cada año, existen 18 millones de nuevos casos de cáncer y se presentan 9.5 millones de muertes derivadas de esta enfermedad. En México, se reportan 190 mil casos nuevos de cáncer y ocurren más de 83,000 muertes anuales. En los próximos 20 años, estudios epidemiológicos estiman que los casos aumentarán 70% (Futakuchi, Fukamachi, & Suzui, 2016; Sottnik, Dai, Zhang, Campbell, & Keller, 2015). Un estudio realizado en el año 2022 menciona que el cáncer de mama es la enfermedad que más se diagnostica en mujeres (Giaquinto et al., 2022) y el cáncer de próstata es la segunda causa de muertes en los hombres. Actualmente los tratamientos para la erradicación de esta enfermedad son cirugía, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, inmunoterapia y trasplante de células madre (medula ósea) (Silva et al., 2020).

Hoy por hoy la creciente investigación sobre nuevos biomateriales con propiedades que apoyen la eliminación o reducción de la proliferación del cáncer es alentadora (Barbanente et al., 2021), como es el caso de la hidroxiapatita por su fórmula general $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es el principal componente de dientes y huesos humanos (Kongsri, Janpradit, Buapa, Techawongstien, & Chanthai, 2013; Pai, Kini, Selvaraj, & Pugazhendhi, 2020). Por sus características de biocompatibilidad, baja toxicidad, capacidad osteoinductora e inductora se puede usar para el injerto y reemplazo óseo en ortopedia, implantología, medicina regenerativa, cirugía dental, para la obtención de imagen celular, administración de fármacos, tratamiento de aguas, entre otros (Hartatiek et al., 2019; Poinern, Brundavanam, Mondinos, & Jiang, 2009; Utara & Klinkaewnarong, 2015). Además, es bien conocida por su capacidad para unirse a una amplia variedad de moléculas y agentes terapéuticos (Broome et al., 2004).

La estructura de la sHap posee la capacidad de introducir iones y mejorar con esto propiedades e incrementar sus aplicaciones, por ejemplo, al Mg^{2+} , Zn^{2+} para reducir la adhesión de osteoblastos (Lv, Song, Lei, & Yin, 2022), by Sr^{2+} , Eu^{3+} como material fluorescente para biodetección (Robles-Águila, Reyes-Avendaño, & Mendoza, 2017). Actualmente se enfoca la atención al selenio (Se) por inducir el crecimiento de células normales, y estimular la reducción de tumores vía apoptosis celular. La incorporación de Se en la estructura de Hap puede prevenir la recurrencia del cáncer mientras promueve el crecimiento óseo; es decir, esta unión tiene doble función, la reparación del tejido y como terapia adyuvante contra el cáncer (Kargozar et al., 2022).

Los investigadores He et al. (2019) pusieron a prueba células de osteoblastos de rata adheridas y esparcidas en partículas de Hap/Se. El Se liberado de las partículas inhibió eficazmente el crecimiento de células osteosarcoma humano (cáncer en los huesos) al inducir la muerte celular. Asimismo, presentó la propiedad de reparación de los defectos óseos después de

extirpar el tumor, ofreciendo seguridad y ataque hacia algún crecimiento de célula tumoral (He et al., 2019). Barbanente et al. (2021) realizaron pruebas estudios biológicos (HEPES), ajustando su acidez (pH) a 7.4 y 6.5 a diferentes tiempos (1, 24, 48 y 72 horas, 7,14 y 30 días). Recolectando alícuotas de 10 ml de sobrenadante para determinar las concentraciones de Se, calcio (Ca) y fósforo. Sin importar el pH, los tres primeros días las muestras liberaron Se más rápido y posteriormente se fue haciendo lenta la liberación y constante (3-30 días). Posteriormente se realizaron estudios de viabilidad celular (ensayo CCK-8) ensayo colorimétrico no radiactivo y sensible para detectar el número de células viables, después de 24 y 72 horas de exposición. Concluyen con estas pruebas que las partículas de Hap-Se presentan una buena compatibilidad con las células; mientras que una alta dosis de Se ejerce una fuerte actividad tóxica con células enfermas (Barbanente et al., 2021).

Se realizó una búsqueda sistemática en Google académico (base de datos de libre acceso) de trabajos publicados desde el año 2017 hasta la fecha de la elaboración del presente artículo. La indagación tuvo como ideas principales las siguientes palabras clave en inglés: a) *hydroxyapatite*, b) *cancer*, c) *selenium*, d) *nanoparticles*, haciendo énfasis en trabajos e investigaciones de la liberación y evaluación biológica del material Hap-Se; su comportamiento en células sanas y enfermas principalmente de cáncer de próstata y mama; asimismo, en los métodos de obtención y caracterización morfología, fase y características de la obtención de la Hap.

DESARROLLO

Características de la hidroxiapatita

La hidroxiapatita es una apatita de fosfato cálcico similar al mineral del tejido óseo (Barry et al., 2013). Está formada por átomos de calcio, fósforo (P) e hidrógeno (H); de acuerdo con la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ con una relación calcio/fósforo de 1.6. Constituyen al hueso humano y están compuestos por una matriz con células dispersas, consistente en 69% de hidroxiapatita, 9% de agua y 22% de materia orgánica que en su mayoría corresponde a colágeno. Se depositan por cristalización en la trama formada por las fibras de colágeno, durante el proceso de calcificación o mineralización, y la estructura entre la Hap y los sustratos orgánicos determinan las propiedades elásticas y mecánicas de los tejidos (Wang & Yeung, 2017).

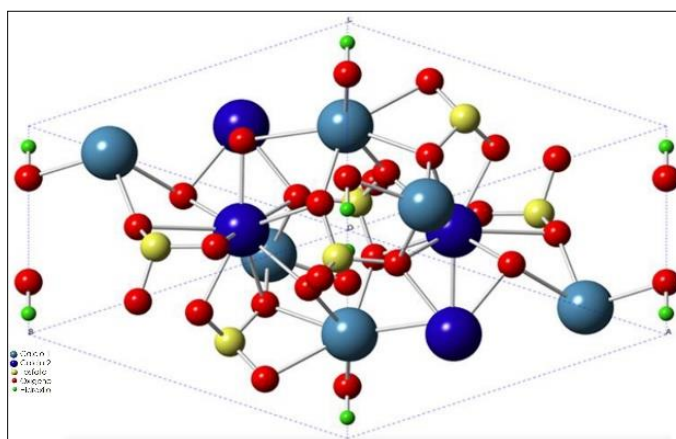


Figura 1. Estructura cristalina hidroxiapatita hexagonal. Imagen tomada de Esteban-Gómez et al. (2017).

Se conocen dos estructuras cristalinas para Hap sintética: la fase hexagonal (grupo espacial $p6_3/m$) con parámetros de celda $a = 9.4302 \text{ \AA}$, $c = 6.8911 \text{ \AA}$, $\gamma = 120^\circ$ y la estructura monoclinica (grupo espacial $P2_1/b$) con parámetros de celda $a = 9.8421 \text{ \AA}$, $b = 2a$, $c = 6.8814 \text{ \AA}$ y $\gamma = 120^\circ$; como se observa en la figura 1, la cual representa la fase hexagonal simulada con datos reales de sHap sintetizada por el método hidrotermal. En general, ambas estructuras se describen por la interacción de aniones tetraédricos (PO_4^{3-}) que están ordenados a lo largo del eje con cationes de Ca^{2+} en los sitios intersticiales y la diferencia entre ambas es la orientación del ion OH (Das & Pamu, 2019; Ferraz, Monteiro, & Manuel, 2004; Fihri, Len, Varma, & Solhy, 2017; Pai et al., 2020; Tõnsuaadu, Gross, Pluduma, & Veiderma, 2012).

Métodos de síntesis de hidroxiapatita. Durante la última década se han desarrollado diversas rutas sintéticas para la producción de nanopartículas de sHap con el fin de garantizar su viabilidad y eficiencia en aplicaciones específicas; a estos métodos se les conoce como rutas de síntesis química, como se indica en la figura 2.

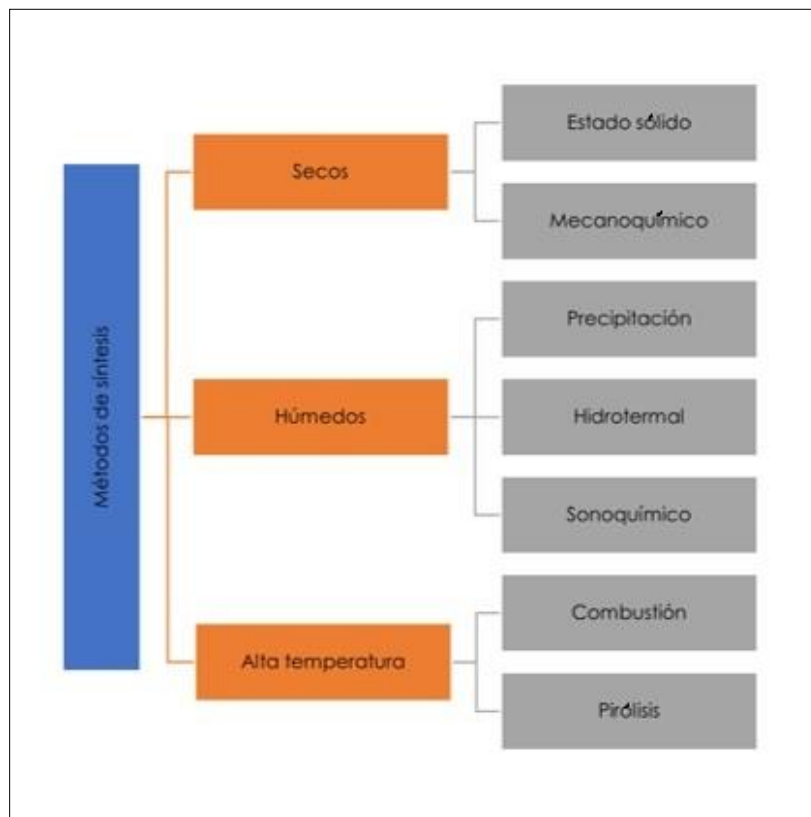


Figura 2. Clasificación de métodos para la obtención de hidroxiapatita. Imagen tomada de Sadat-Shojai et al. (2013).

Por mencionar algunos ejemplos de síntesis, los métodos secos en general no utilizan un disolvente, las características del polvo obtenido no están influenciadas por parámetros de funcionamiento; por tanto, no se requieren condiciones muy controladas sobre la precisión,

haciéndolos más adecuados para la producción en masa de Hap. Este tipo de método es relativamente simple; se calcinan a elevadas temperaturas los precursores de calcio y fosfato (por ejemplo 1000 °C), ocasionando con esto una estructura bien cristalizada (Ferraz et al., 2004).

Por otra parte, el método húmedo consiste en la separación de un componente en una mezcla de compuestos, ya sea por reactividad o bien por distinta solubilidad en un determinado disolvente. Posteriormente se utiliza la decantación o la filtración para el aislamiento, y se aplican técnicas de purificación, cromatografía por columna, hasta obtener el compuesto puro (Paz, González, López, Becquer, & Parodi, 2010; Uskoković & Uskoković, 2011).

Se emplean diferentes precursores como fuentes de calcio y fósforo, tales como óxido de calcio, beta fosfato tricálcico, nitrato de calcio (Othman, Mustafa, Loon, & Noor, 2016; Sadat-Shojai, Khorasani, & Jamshidi, 2015); nitrato de calcio tetrahidratado (Sadat-Shojai, Atai, & Nodehi, 2011); fosfato de calcio dibásico, óxido fosfórico (Salimi, Bridson, Grover, & Leeke, 2012); entre otros; asimismo, se trabaja con diferentes condiciones de síntesis; tales como tiempo y temperatura de reacción, concentración de precursores, variación del pH, por mencionar algunos parámetros (Jin, Zhuang, Zhang, Guo, & Tan, 2015; Mori & Aizawa, 2017).

Aplicaciones. La sHap tiene una gran cantidad de aplicaciones, tales como la separación y la purificación de proteínas e implantes de hueso. Sin embargo, para cada aplicación se deben modificar las características físicas y químicas tales como forma de partícula, tamaño del poro, dureza, pureza y cristalinidad del material (Zhong et al., 2017). Ha sido ampliamente usada como sustituto de hueso debido a su biocompatibilidad, ya que sus componentes minerales son similares a los huesos y dientes del cuerpo humano (Zhu, Xu, Liu, Zhang, & Wu, 2018). Existen productos en venta principalmente por Internet, como describe la tabla 1. Productos como pastas para dientes, suplementos alimenticios o cosméticos inyectables que hacen mención de hidroxapatita como su activo principal y aporta beneficios para combatir la sensibilidad en los dientes y mantener huesos saludables. También como material de relleno y apoyo en la migración celular con creación de nuevo sistema óseo.

Tabla 1
Productos de venta por internet con activo principal de Hap

Producto	Marca	Costo MXN	Uso
Pasta para dientes	Davids Natural	1,200	Blanqueadora
Pasta para dientes	Perioscience White Care	1,300	Blanqueadora
Suplemento alimenticio	Now Foods	250	Fuente de calcio biodisponible
Suplemento alimenticio	Metagenics	800	Osteopenia y osteoporosis
Hueso humano	BONEFIX	1,900	Relleno de cavidades o defectos óseos en el área maxilofacial y cavidades alveolares

Nota: Elaboración propia.

Actualmente la Hap se vende a nivel internacional, principalmente como reactivo químico para realizar síntesis de materiales, como fertilizante y uso cosmetológico; sin embargo, como se observa en la tabla 2 se hace una comparación entre ellas; destacan las que publicitan como hidroxiapatita; pero en su composición química, especificaciones y no poseer estudios de toxicología, pone en duda si realmente es el material mencionado. Por otra parte, se hace mención de otras, que por cuyas especificaciones y fichas de seguridad se comprueba la veracidad del producto y sugieren su uso como precursor de síntesis o empleo en el área biomédica. El continente asiático corresponde a la industria que más la distribuye, seguido de América del Norte y a nivel nacional no se reporta la producción o síntesis de este material a gran escala.

Tabla 2
Comparativo y costos de hidroxiapatita

Marca	Paquete	PRECIO USD \$	Producto/característica	Composición	Uso	Toxicología	Sitio
AkSci X4937	100 g	27	Hidroxiapatita >24%Ca	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$	Reactivo químico	Información no disponible	Aksci.com
Alfa Aesar Thermo Fisher Scientific	10-50 g	106-405	Hidroxiapatita polvo	$\text{HCa}_5\text{O}_{13}\text{P}_3$	Fraccionamiento y purificación de proteínas, enzimas, plásmidos y ácidos nucleicos	Información no disponible	Thermo Fisher Scientific
Sigma-Aldrich	50 g	230- 300	Hidroxiapatita polvo, 5 o 10 μm , área superficial $\geq 80 \text{ m}^2/\text{g}$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Reactivo para laboratorio, síntesis de sustancias	DL50 oral - rata - hembra - > 2,000 mg/kg (Directrices de ensayo 423 del OECD)	Merck KGaA
Sigma-Aldrich	50 g	280	Hidroxiapatita polvo, 2 μm , área superficial $\geq 80 \text{ m}^2/\text{g}$	Información no disponible	Reactivo para laboratorio, síntesis de sustancias	DL50 oral - rata - hembra - > 2,000 mg/kg (Directrices de ensayo 423 del OECD)	Merck KGaA
Sigma-Aldrich	50 g	110-250	Hidroxiapatita pasta acuosa, <50 nm, 5, 15 o 30% en peso	Información no disponible	Reactivo para laboratorio, síntesis de sustancias	Información no disponible	Merck KGaA
Weifang Economic Hotspot Biotechnology Center	25 g	100	Hidroxiapatita polvo, HPLC >99.5%	$\text{Ca}_5\text{HO}_{13}\text{P}_3$	Intermedios de síntesis orgánica	Información no disponible	Alibaba.com
Xi'an Multihealth Biotech Co., Ltd.	1 -100 kg	50-150 por kg	Hidroxiapatita polvo, 99% pureza, grado cosmético	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Suplemento alimenticio	Información no disponible	AliExpress
Wuxi Volksky New Materials Co., Ltd.	1-100 kg	25-40 por kg	Hidroxiapatita polvo, 99% pureza	$\text{Ca}_5\text{HO}_{13}\text{P}_3$	Fertilizante y aditivo para alimentos	Información no disponible	Alibaba.com
Xian Season Biotechnology Co., Ltd.	1kg	20-70	Hidroxiapatita polvo, 95-99% pureza	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Materias primas cosméticas, productos químicos para síntesis, pasta de dientes	Información no disponible	Alibaba.com
Shaanxi Coenze Biotech Co., Ltd.	1 kg	65-215	Hidroxiapatita polvo, 20, 60, o 200 nm, 97, 99% pureza, grado implante	$(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Materiales intermedios de síntesis, hueso implante	Información no disponible	Coenze
Grimberg Store	0.5 ml	285	Hidroxiapatita matriz mineral de hidroxiapatita de origen bovino, <210 μm	Información no disponible	Excelente andamio de soporte en el sitio de implante, conservando el volumen del injerto a largo plazo	Información no disponible	Grimberg Dental Center, S. A.

Nota: Elaboración propia.

Se y sus alcances

El Se es un elemento ampliamente distribuido en todo el mundo. Comúnmente se encuentra en rocas y el suelo, combinado con sulfuros o minerales de plata (Ag), cobre (Cu), plomo (Pb) o níquel (Ni). Tiene una apariencia desde gris metálica hasta cristales negros y se conoce como selenio elemental o polvo de selenio. También es producido de forma comercial, principalmente como producto secundario en la refinación del cobre. Se usa en artículos fotográficos, líquidos para limpiar partes metálicas de armas de fuego, plásticos, pinturas, shampoo para caspa, vitaminas y suplementos nutricionales, fungicidas y preparación de medicamentos.

El Se es un microelemento esencial que determina el buen funcionamiento del cuerpo humano, posee efectos antioxidantes y protege al organismo contra la acción de radicales libres y factores cancerígenos (forma redox) (Wei, Pang, He, & Deng, 2017). Algunas investigaciones han demostrado que el suministro adecuado de Se mejora la resistencia a las fracturas y retrasa el envejecimiento óseo; disminuye las enfermedades cardiovasculares, tipos de cáncer, tiroideas, cerebrales, óseas e infecciones virales; sin embargo, la deficiencia de este elemento incrementa el desarrollo de ataques epilépticos y de enfermedades de Parkinson. Provoca problemas de coordinación sobre la fertilidad masculina; ya que participa en la biosíntesis de la testosterona; así como en la formación y desarrollo de los espermatozoides, retraso del crecimiento y afectación en el metabolismo del tejido óseo (Wei et al., 2017).

El Se afecta diversos procesos celulares y vías moleculares que pueden estar involucradas en su efecto anticancerígeno e incluyen (Zeng, Cao, & Combs, 2013):

- Selenoenzimas que implican la reducción del daño en el ADN, el estrés oxidativo y la inflamación.
- Inducción de enzimas de conjugación de fase II que implica la desintoxicación de carcinógenos y la reducción de la formación de aductos de ADN.
- Mejora de la respuesta inmunitaria, incluidos los linfocitos citotóxicos y la actividad de las células asesinas naturales.

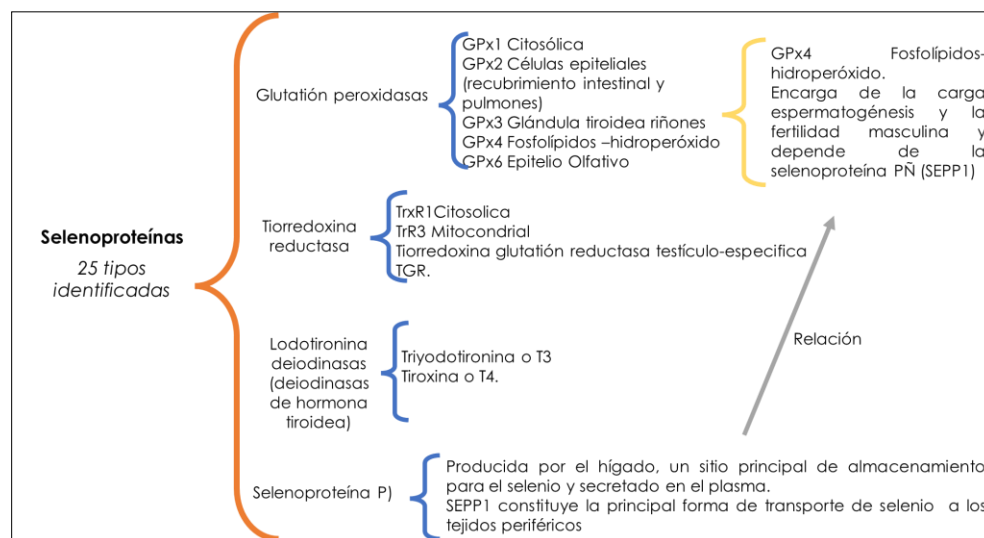


Figura 3. Algunas de las selenoproteínas con una función identificada.
Elaboración propia.

Por ejemplo, se conocen 25 genes que codifican las selenoproteínas identificadas en los humanos (Mariotti et al., 2012). Como se menciona en la figura 3, una de ellas es el glutatión peroxidasa, se compone de cinco enzimas GPx1-4 y GPx6. Las isoenzimas GPx son catalizadores antioxidantes que reducen a las especies reactivas de oxígeno potencialmente dañinas, como el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos lipídicos en productos inocuos como el agua y los alcoholes.

La enzima GPx4 se encarga de la espermatogénesis y la fertilidad masculina y depende de la selenoproteína P (SEPP1) para reducir los hidroperóxidos y fosfolípidos, protegiendo a los espermatozoides inmaduros contra el estrés oxidativo y la incorporación de la espiral mitocondrial del espermatozoide maduro (motricidad) (Boitani & Puglisi, 2008). La SEPP1 se produce principalmente en el hígado, sitio principal de almacenamiento para el Se y constituye la principal forma de transporte de Se a los tejidos periféricos (Hill et al., 2012). Existen modelos con animales carentes de este gen que se vuelven infértiles debido a la biodisponibilidad pobre de Se en los tejidos, a la síntesis defectuosa de GPx4 y a la maduración deteriorada del espermatozoide. Lo anterior es un ejemplo de cómo el cuerpo necesita y procesa dicho elemento, dándole importancia su uso y consumo (Mangiapane, Pessione, & Pessione, 2014; Mariotti et al., 2012).

La ingesta diaria recomendada por el Instituto de Medicina de EE. UU. y la Federación Europea de Asociaciones de Dietistas (EFAD) es de 50 a 60 mg para adolescentes y adultos. Puede obtenerse de alimentos con mayor presencia de Se; tales como cereales integrales, pescados y mariscos, algunos tipos de verdura (cebolla, espárragos), semillas como las de girasol, frutos secos como la nuez de Brasil o también tomando suplementos alimenticios. El selenito y el selenato de sodio son formas inorgánicas del Se que pueden ser metabolizadas por el cuerpo y ser incorporadas en las selenoenzimas (Higdon, Drake, Delage, & Tsuji, 2017).

Hap/Se: lo más notable

Como se mencionó anteriormente la estructura química de la sHap ofrece la posibilidad para el intercambio iónico en sus sitios aniónicos (PO_4 , OH) y catiónicos (Ca). Esta característica hace fácil la incorporación de iones (Fe^{2+} , Gd^{3+} , Se^{2+} , etc.), la creación de defectos estructurales durante su proceso de síntesis; tiene como objetivo cambiar/modificar las propiedades fisicoquímicas; tales como brecha de banda, carga superficial, área superficial; así como la liberación /captación de iones y, por tanto, mejorar su comportamiento biológico (c. ej. mejorar la osteogénesis).

Incorporación estructural de Hap/Se. La Hap dopada con iones Se, principalmente, se obtiene a través de la síntesis; durante la cual los iones se incorporan a la estructura, como lo menciona Varun Prasath Padmanabhan et al. (2020) usaron los métodos de precipitación química y por sonicación, sintetizaron compuestos de Hap sustituidos por Se. Los análisis espectroscópicos FTIR y Raman confirmaron el dopaje exitoso de Se en la matriz de Hap y con el análisis de DRX indicaron su alta cristalinidad; el análisis morfológico indicó que por el método sonoquímico se produjeron partículas en forma de bastoncillos; mientras que por el de precipitación se presentaron partículas con estructuras aglomeradas (Padmanabhan et al., 2020). En la tabla 3 se resumen algunos trabajos recientes sobre la síntesis de Hap/Se y las pruebas biológicas realizadas en este material.

Tabla 3
Comparativa de trabajos realizados para la síntesis de Hap y tipo de evaluación célula

Referencia	Precusores	Método de síntesis	Morfología	Células	Pruebas celulares	Aplicación
Barbanente et al. (2021)	H ₃ PO ₄ y Na ₂ SeO ₃ gota a gota a Ca (CH ₃ COO) ₂	Precipitación, pH9, (NH ₄) OH	Placas 25*15 nm y 100*10 nm	PC3 (cáncer próstata) hBMSc células sanas	Kit de células CCK-8 células sanas hBMSc, cancerosas próstatas PC3	Muerte celular tumoral
Zakhireh et al. (2021)	SeO ₂ , espina de pescado	Mecanomecánico	Esférica multiparedes 200nm	Células madre mesenquimales (MSC), celular de osteosarcoma óseo humano (KHOS-240S)	Ensayo MTT actividad fosfatasa alcalina (ALP), tinción con rojo de alizarina s(ARS)	Tratamientos contra cáncer, regeneración ósea
Li et al. (2019)	Ca (NO ₃) ₂ , ((NH ₃) ₂ HPO ₄), (Na ₂ SeO ₃)	Térmico de dos pasos con alcohol	nanovarillas 2 micras	Viabilidad celular en células madre mesenquimales	Kit de células CCK-8	Inhibición del crecimiento de células tumorales
Wei et al. (2017)	Ca(NO ₃) ₂ , (NH ₄) ₃ PO ₄ , Na ₂ (SeO ₃)	Precipitación química	aguja 150-200 nm	No	No	Injerto óseo
Sun et al. (2017)	(NO ₃) ₂ , Ca ₃ PO ₄ , Na ₂ SeO ₃	Solvotermal	nanovarillas/nano agujas 100nm	Células osteoblastos embrionarios de ratón MC3T3-E1	Kit de células CCK-8	Reparador de defectos óseos
Alkan y Durucan (2022b)	(Ca(NO ₃) ₂), (NH ₄) ₂ HPO ₄ , (Na ₂ SeO ₃)	Precipitación	Aglomerados 2um	No	No	Rellenos defectos óseos
Padmanabhan et al. (2020b)	Ca(NO ₃) ₂ , Na ₂ SeO ₃ , (NH ₄) ₂ HPO ₄	Precipitación/sonicación	56 nm aglomerados, 29 nm agujas	Cancerosas MG-63, sanas NIH-3T3	Prueba hemolítica, DMEM medio Eagle modificado de Dulbecco	Injerto óseo

Nota: Elaboración propia.

En el trabajo realizado por Alkan y Durucan (2022) se sintetizaron partículas de Hap incorporando Se mediante el método de precipitación acuosa usando sales de calcio y fosfato, obteniendo partículas aglomeradas. Observaron en micrografías obtenidas por TEM cristales en forma de aguja que se pronuncian al incrementar la cantidad de dopante, lo que sugiere un crecimiento preferencial en relación con la incorporación del Se. La estructura química de los polvos de Hap pura y dopados se investigó mediante FTIR, indicando la obtención de las bandas correspondientes a fosfatos y grupo hidroxilo características de la fase de Hap y otros modos vibracionales se atribuyen al Se.

Los investigadores Li et al. (2019) sintetizaron nanovarillas de Hap dopadas con Se altamente cristalinas con el método térmico en alcohol. Primero se formó una apatita amorfa de 30 nm, después de una reacción térmica en alcohol aparecieron nanovarillas que posteriormente se transformaron en nanovarillas monocristalinas a través de la cristalización. Los resultados por DRX corresponden a hidroxiapatita, esto significa que no hay otras impurezas. El dopaje de Se, en forma de SeO_3^{2-} no tiene influencia significativa sobre la fase principal de los cristales de hidroxiapatita. Los resultados por FTIR las bandas características de la Hap y los correspondientes la selenita. Por la técnica de TEM se observaron morfología de nanovarillas de $2\mu\text{m}$ de longitud y determinan que al incrementar el porcentaje de Se se tiene una relación con el ancho de las partículas; es decir, entre mayor es el dopante de Se más ancha se vuelve la nanovarilla (Li et al., 2019).

Zakhireh, Adibkia, Beygi-Khosrowshahi y Barzegar-Jalali (2021) introdujeron iones de Se en la estructura de HA utilizando el método de aleación mecanoquímica (MCA). Extrajeron HA de la espina de pescado, posteriormente la doparon con Se (Se-Hap). Se analizaron los polvos utilizando espectros de difracción de rayos X mostrando un cambio nulo en la estructura cristalográfica por el dopaje de Se. Calcularon el tamaño de cristal, obtuvieron tamaños de 87 y 78 nm para polvos HA y Se-HA, respectivamente. El cambio en las constantes de red de Hap se debió a la sustitución de átomos de fósforo por Se, así como a la formación de tensiones en la matriz. Con el aumento de la tensión, aumentan los defectos de los cristales en la matriz, lo que conduce a una disminución del tamaño de los cristallitos y de la intensidad de los picos, microscopio electrónico de barrido (MEB), determinaron morfología de esferas con tamaños aproximados de 200 nm, sin presentar algún defecto a consecuencia del dopaje con Se. Por espectroscopia infrarroja transformada de Fourier determinaron las bandas características a A y al Se (Zakhireh et al., 2021).

Evaluación biológica Hap/Se. Barbanente et al. (2021) realizaron prueba HEPES, ajustando a dos pH (7.4, 6.5), en diferentes tiempos (1, 24, 48 y 72 horas y 7, 14 y 30 días). Recolectando alícuotas de 10 ml de sobrenadante para determinar las concentraciones de Se, P y Ca. Sin importar el pH, los tres primeros días las muestras liberaron Se más rápido y posteriormente una etapa de liberación lenta y constante (3-30 días). Sugieren que en la primera etapa se liberaron iones de selenita de la capa superficial hidratada de los nanocristales seguida de la disolución gradual de las NPHap, liberando iones de SeO_3^{2-} , influenciadas primeramente por el pH de la solución (6.5). Los resultados de viabilidad celular (ensayo CCK-8 después de 24 h y 72 h de tiempo de exposición) mencionan que el tratamiento con selenito de sodio $10\mu\text{M}$ (después de 24 h) redujo la viabilidad de las células MDA-MB-231eGFP de manera más efectiva que las células PC3 (células cáncer de próstata), mientras que el selenito redujo la viabilidad de hBMSc (células sanas) a una concentración de $5\mu\text{M}$. Curiosamente, después de 72 h, el selenito de sodio muestra un efecto sustancial en las células PC3 a $5\mu\text{M}$. Por tanto, podría afirmarse que las células MDA son más sensibles al selenito de sodio, en comparación con PC3 después de 24h de tiempo de exposición, pero después de 72 h se observa una tendencia opuesta. Concluyen que las pruebas celulares

in vitro mostraron que suspensiones de HASE NP con una baja concentración de Se presentan buena compatibilidad con las células, mientras que las HASE con una alta concentración de Se ejercen una fuerte actividad citotóxica sobre las células cancerosas; pero provocan un aumento en los niveles de toxicidad de hBMSc (Barbanente et al., 2021). En la evaluación de la actividad citotóxica utilizando células cancerosas de próstata, mama y células saludables de médula ósea encontraron que existe buena citocompatibilidad a bajas concentraciones de Se y ejerce buena citotoxicidad en el cáncer, pero también en las células sanas (Barbanente et al., 2021).

Zakhireh et al. (2021) observaron buen comportamiento de adhesión celular y forma de osteoblastos en el andamio Se-HA. Los resultados de la diferenciación osteogénica demostraron una actividad fosfatasa alcalina (ALP) sinérgicamente mejorada. Además, los resultados de la prueba de Western blot mostraron que la diferenciación de hAD-MSC hacia tejido óseo aumentó hasta en 50% mientras se dopaba con Se. En el análisis de ensayo de viabilidad celular (actividad metabólica por reducción del compuesto MTT) utilizaron la línea celular de osteosarcoma óseo humano (KHOS-240S) y como resultados de la prueba después de 3, 5 y 7 días de cultivo comprobaron que la presencia de Se en la estructura de Hap tuvo un efecto aditivo sobre la proliferación de células madre mesenquimales (MSC). Además, hubo un aumento de casi 30% en la expansión celular en las muestras de Se-HA después de siete días en comparación con las muestras de HA pura.

El Se ejerce un efecto proliferativo sinérgico en la Hap células a través de iones Ca^{2+} mejorados en el andamio Se-Hap. El dopante Se tiene un efecto citotóxico selectivo sobre las hAD-MSC y la línea celular de osteosarcoma óseo humano (KHOS-240S). Esta doble actividad hace que el andamio Se-Hap sea un candidato potencial para su uso en defectos de osteosarcoma, reveló la actividad antiproliferativa del andamio Se-Hap contra las células cancerosas óseas. La calcificación la evaluaron en tinción para determinar la cantidad de depósito de calcio en hAD-MSC. Presentaron imágenes microscópicas de las MSC después de colorear con ARS en los medios de cultivo celular que incluyen Hap, Se-Hap y muestras de control.

El ARS, como compuesto orgánico, hace que la matriz inorgánica de calcio cambie a rojo. Si la superficie está roja después de usar ARS significa que la superficie está llena de calcio. En cuanto a las imágenes, la intensidad del color rojo se elevó por el dopaje de Se en la Hap, lo que fue motivo de mayor existencia de calcio compuestos en la superficie. Los autores de esta investigación, basados en sus resultados, concluyen que la línea celular de osteosarcoma óseo (KHOS-240S) reveló la propiedad anticáncer óseo del dopante Se; lo que indica su utilidad potencial como andamio bifuncional para la terapia tumoral y la regeneración ósea simultáneas (Zakhireh et al., 2021).

Se prevé que en un futuro continúe la investigación y estudio de la interacción entre partículas de Hap-Se y el efecto que tiene sobre células cancerígenas. Sin embargo, debemos puntualizar su importancia sobre el efecto que presenta sobre el cáncer, tipos y mecanismos para que en un futuro se logre innovar con un material que tenga la capacidad suficiente de erradicar esta enfermedad sin modificar o influir en las células sanas.

CONCLUSIONES

La hidroxiapatita ha ampliado considerablemente su gama de aplicaciones biomédicas más allá de la reparación ósea gracias a la modificación de su estructura, con dimensiones nanométricas al lograr interactuar con biomoléculas como células y tejidos, siendo una nueva arma principalmente contra el cáncer.

La combinación de Hap de tamaño nanométrico con fármacos para atacar células cancerígenas, así como el potencial dopaje con iones metálicos, tal como el caso del Se, son áreas de investigación que merecen una mayor exploración para disminuir el uso de quimioterapéuticos convencionales que generan efectos secundarios. Asimismo, toda la investigación anterior abre un gran panorama sobre un biomaterial que tiene las características y propiedades ideales para que en un futuro se puedan sustituir los tratamientos convencionales para la erradicación del cáncer e incrementar la salud de la población afectada por este padecimiento.

REFERENCIAS

- Alkan, B., & Durucan, C. (2022). Complete Chemical and Structural Characterization of Selenium-Incorporated Hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 33(1). <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06631-6>
- Barbanente, A., Palazzo, B., Degli Esposti, L., Adamiano, A., Iafisco, M., Ditaranto, N., ... Margiotta, N. (2021). Selenium-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles for Potential Application in Bone Tumor Therapy. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 215, 111334. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111334>
- Barry, J. N., Twomey, B., Cowley, A., O'Neill, L., McNally, P. J., & Dowling, D. P. (2013). Evaluation and comparison of hydroxyapatite coatings deposited using both thermal and non-thermal techniques. *Surface and Coatings Technology*, 226, 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2013.03.039>
- Boitani, C., & Puglisi, R. (2008). Selenium, a key element in spermatogenesis and male fertility. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 636, 65-73. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09597-4_4
- Broome, C. S., McArdle, F., Kyle, J. A. M., Andrews, F., Lowe, N. M., Hart, C. A., ... Jackson, M. J. (2004). An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(1), 154-162. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.1.154>
- Das, A., & Pamu, D. (2019). A comprehensive review on electrical properties of hydroxyapatite based ceramic composites. *Materials Science and Engineering: C*, 101, 539–563. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.077>
- Esteban-Gómez, S., Sánchez-Catillo, A., Salinas-Rodríguez, E., Reyes-Valderrama, M. I., & Rodríguez-Lugo, V. (2017). Simulación estructural de hidroxiapatita con base en la teoría del funcional de la densidad. *Tópicos de Investigación en Ciencias de la Tierra y Materiales*, 4(4), 44-55. <https://doi.org/10.29057/aactm.v4i4.9379>
- Ferraz, M. P., Monteiro, F. J., & Manuel, C. M. (2004). Hydroxyapatite Nanoparticles?: A Review of preparation methodologies. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics: JABB*, 2(2), 74–80. PMID: 20803440. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20803440/>

- Fihri, A., Len, C., Varma, R. S., & Solhy, A. (2017). Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. *Coordination Chemistry Reviews*, 347, 48–76. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.06.009>
- Futakuchi, M., Fukamachi, K., & Suzui, M. (2016). Heterogeneity of tumor cells in the bone microenvironment: Mechanisms and therapeutic targets for bone metastasis of prostate or breast cancer. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 99(Pt B), 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.017>
- Giaquinto, A. N., Sung, H., Miller, K. D., Kramer, J. L., Newman, L. A., Minihan, A., ...Siegel, R. L. (2022). Breast Cancer Statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(6), 524–541. <https://doi.org/10.3322/caac.21754>
- Hartatiek, Dwiasih, P., Yudyanto, Hidayat, N., Kurniawan, R., & Masrurroh. (2019). Sonochemical Synthesis of nano-hydroxyapatite/chitosan biomaterial composite from shellfish and their characterizations. En *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 515). Institute of Physics Publishing.
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/515/1/012050>
- He, L., Li, H., Chen, X., Xu, T., Sun, T., Huang, H., ...Duan, K. (2019). Selenium-Substituted Hydroxyapatite Particles with Regulated Microstructures for Osteogenic Differentiation and Anti-Tumor Effects. *Ceramics International*, 45(11), 13787–13798. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.04.075>
- Higdon, J., Drake, V. J., Delage, B., & Tsuji, P. A. (2017). Selenio. Instituto Linus Pauling. <https://lpi.oregonstate.edu/es/mic/minerales/selenio#autores-criticos>
- Hill, K. E., Wu, S., Motley, A. K., Stevenson, T. D., Winfrey, V. P., Capecchi, M. R., ...Burk, R. F. (2012). Production of selenoprotein p (sepp1) by hepatocytes is central to selenium homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, 287(48). <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.421404>
- Jin, X., Zhuang, J., Zhang, Z., Guo, H., & Tan, J. (2015). Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods in the presence of sodium citrate and its aqueous colloidal stability evaluation in neutral ph. *Journal of Colloid and Interface Science*, 443, 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.12.010>
- Kargozar, S., Mollazadeh, S., Kermani, F., Webster, T. J., Nazarneshad, S., Hamzehlou, S., & Baines, F. (2022). Hydroxyapatite nanoparticles for improved cancer theranostics. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/jfb13030100>
- Kongsri, S., Janpradit, K., Buapa, K., Techawongstien, S., & Chanthai, S. (2013). Nanocrystalline hydroxyapatite from fish scale waste: Preparation, characterization and application for selenium adsorption in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*, 215–216, 522–532. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.054>
- Li, Y., Hao, H., Zhong, Z., Li, M., Li, J., Du, Y., ... Zhang, S. (2019). Assembly mechanism of highly crystalline selenium-doped hydroxyapatite nanorods via particle attachment and their effect on the fate of stem cells. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 5(12), 6703–6714. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01029>
- Lv, Y., Song, X., Lei, T., & Yin, P. (2022). Structural and antibacterial properties of doped zinc oxide and their composites with hydroxyapatite. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 651. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129706>
- Mangiapane, E., Pessione, A., & Pessione, E. (2014). Selenium and selenoproteins: An overview on different biological systems. *Current Protein & Peptide Science*, 15(6). <https://doi.org/10.2174/1389203715666140608151134>
- Mariotti, M., Ridge, P. G., Zhang, Y., Lobanov, A. V., Pringle, T. H., Guigo, R., ...Gladyshev, V. N. (2012). Composition and evolution of the vertebrate and mammalian selenoproteomes. *PLoS ONE*, 7(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033066>

- Mori, Y., & Aizawa, M. (2017). Control of Ca/P molar ratio of plate-shaped hydroxyapatite powders with an a(b)-axis orientation and their thermal stability. *International Journal of Metallurgical & Materials Engineering*, 3. <https://doi.org/10.15344/2455-2372/2017/132>
- Othman, R., Mustafa, Z., Loon, C. W., & Noor, A. F. M. (2016). Effect of calcium precursors and PH on the precipitation of carbonated hydroxyapatite. *Procedia Chemistry*, 19, 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.03.050>
- Padmanabhan, V. P., Kulandaivelu, R., Venkatachalam, V., Veerla, S. C., Mohammad, F., Al-Lohedan, H. A., ... Sagadevan, S. (2020). Influence of sonication on the physicochemical and biological characteristics of selenium-substituted hydroxyapatites. *New Journal of Chemistry*, 44(40), 17453–17464. <https://doi.org/10.1039/d0nj03771k>
- Pai, S., Kini, S. M., Selvaraj, R., & Pugazhendhi, A. (2020). A review on the synthesis of hydroxyapatite, its composites and adsorptive removal of pollutants from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 38. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101574>
- Paz, A., González, J. E., López, M., Becquer, C. E., & Parodi, M. B. (2010). Obtención de nanopartículas de hidroxiapatita empleando disoluciones con elevado contenido de iones calcio y fosfato. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 41. <https://www.redalyc.org/pdf/1816/181620500003.pdf>
- Poinern, G. E., Brundavanam, R. K., Mondinos, N., & Jiang, Z. T. (2009). Synthesis and characterisation of nanohydroxyapatite using an ultrasound assisted method. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(4), 469–474. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.01.007>
- Quintero Alvarez, K. (2012). *Síntesis de Cordierita a Partir de Hidroxihidrogeles Bajo Tratamiento Hidrotermal* (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia). Repositorio Institucional Biblioteca Digital. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/9202>
- Robles-Águila, M. J., Reyes-Avendaño, J. A., & Mendoza, M. E. (2017). Structural analysis of metal-doped (mn, fe, co, ni, cu, zn) calcium hydroxyapatite synthesized by a sol-gel microwave-assisted method. *Ceramics International*, 43(15), 12705–12709. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.06.154>
- Sadat-Shojai, M., Atai, M., & Nodehi, A. (2011). Design of experiments (DOE) for the optimization of hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(3), 571–582. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000300023>
- Sadat-Shojai, M., Khorasani, M. T., & Jamshidi, A. (2015). 3-dimensional cell-laden nano-hydroxyapatite/protein hydrogels for bone regeneration applications. *Materials Science and Engineering C*, 49, 835–843. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.067>
- Sadat-Shojai, M., Khorasani, M. T., Ehsan Dinpanah-Khoshdargi, & Jamshidi, A. (2013). Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*, 9(8), 7591–7621. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>
- Salimi, M. N., Bridson, R. H., Grover, L. M., & Leeke, G. A. (2012). Effect of processing conditions on the formation of hydroxyapatite nanoparticles. *Powder Technology*, 218, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2011.11.049>
- Silva, D., Abreu-Mendes, P., Mourato, C., Martins, D., Cruz, R., & Mendes, F. (2020). Cáncer de próstata, nuevas opciones de tratamiento: inmunoterapia. *Actas Urológicas Españolas*, 44(7), 458–468. <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2020.01.009>
- Sottnik, J. L., Dai, J., Zhang, H., Campbell, B., & Keller, E. T. (2015). Tumor-induced pressure in the bone microenvironment causes osteocytes to promote the growth of prostate cancer bone metastases. *Cancer Research*, 75(11), 2151–2158. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-14-2493>
- Sun, J., Zheng, X., Li, H., Fan, D., Song, Z., Ma, H.,... Hui, J. (2017). Monodisperse selenium-substituted hydroxyapatite: Controllable synthesis and biocompatibility. *Materials Science and Engineering: C*, 73, 596–602. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.106>

- Tõnsuaadu, K., Gross, K. A., Pluduma, L., & Veiderma, M. (2012). A review on the thermal stability of calcium apatites. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 110(2), 647–659. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1877-y>
- Uskoković, V., & Uskoković, D. P. (2011). Nanosized hydroxyapatite and other calcium phosphates: Chemistry of formation and application as drug and gene delivery agents. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 96B(1), 152–191. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31746>
- Utara, S., & Klinkaewnarong, J. (2015). Sonochemical synthesis of nano-hydroxyapatite using natural rubber latex as a templating agent. *Ceramics International*, 41(10), 14860–14867. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.08.018>
- Wang, W., & Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*, 2(4), 224–247. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.05.007>
- Wei, L., Pang, D., He, L., & Deng, C. (2017). Crystal structure analysis of selenium-doped hydroxyapatite samples and their thermal stability. *Ceramics International*, 43(18), 16141–16148. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.08.189>
- Zakhireh, S., Adibkia, K., Beygi-Khosrowshahi, Y., & Barzegar-Jalali, M. (2021). Osteogenesis promotion of selenium-doped hydroxyapatite for application as bone scaffold. *Biological Trace Element Research*, 199(5), 1802–1811. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02309-2>
- Zeng, H., Cao, J. J., & Combs, G. F. (2013). Selenium in bone health: Roles in antioxidant protection and cell proliferation. *Nutrients*, 5(1), 97–110. <https://doi.org/10.3390/nu5010097>
- Zhong, S., Chen, J., Li, Q., Wang, Z., Shi, X., Lin, K., & Zhang, Q. (2017). Assembly synthesis of spherical hydroxyapatite with hierarchical structure. *Materials Letters*, 194, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.01.146>
- Zhu, Y., Xu, L., Liu, C., Zhang, C., & Wu, N. (2018). Nucleation and growth of hydroxyapatite nanocrystals by hydrothermal method. *AIP Advances*, 8(8). <https://doi.org/10.1063/1.5034441>



Esta obra está bajo una licencia internacional [Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Usted es libre de Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

Adaptar — remezclar, transformar y construir a partir del material

La licenciente no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciente.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales.

CompartirIgual — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, debe distribuir su contribución bajo la misma licencia del original.