

Introdução

A substituição de ossos, articulações e dentes por biomateriais é usualmente realizada em cirurgias para aliviar a dor e recuperar a função do tecido afetado. Esta técnica é muito bem sucedida atualmente, no entanto, pode haver uma perda óssea local, resultando no afrouxamento asséptico, que torna necessária a substituição do implante. Durante a inserção de um implante, micropartículas dos materiais biocompatíveis utilizados podem ser geradas. Estas podem ser reconhecidas e fagocitadas pelas células do sistema imune inato, como os macrófagos, induzindo a produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias, que alteram a homeostasia local do tecido ósseo, levando à osteólise, ao invés da osseointegração. O reconhecimento ao não-próprio é realizado por receptores celulares, como os Toll-like Receptors (TLR). A ligação aos TLRs leva a transdução de sinais intracelulares, que culmina com a transcrição de citocinas que iniciarão uma resposta imune contra a substância estranha. Dessa forma, o presente trabalho avaliou a influência do TLR4 no reconhecimento e internalização das partículas de titânio e zircônio em modelos *in vitro* e *in vivo*, a fim de estabelecer uma associação deste reconhecimento com a inflamação que levará à perda do implante.

Palavras-Chave: Biomateriais - Fagocitose - TLR4

Metodologia

No experimento *in vitro*, macrófagos peritoneais provenientes de camundongos de dois grupos (controle e knockout para TLR4) foram cultivados com partículas de titânio e zircônio em tamanho fagocitável. No modelo *in vivo*, os camundongos foram inoculados intraperitonealmente com partículas de zircônio, seguido de uma lavagem peritoneal para obtenção dos macrófagos. A internalização das partículas foi confirmada por microscopia eletrônica de varredura e quantificada por microscopia óptica.

Resultados e Discussão

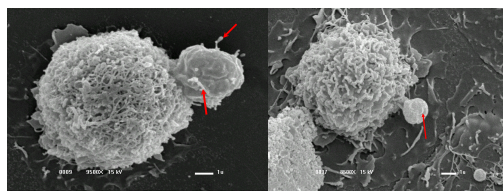


Figura 1. Micrografias eletrônicas de varredura de fagocitose *in vitro*. Setas vermelhas indicam prolongamentos celulares envolvendo a partícula de zircônio. Aumento de 8500x.

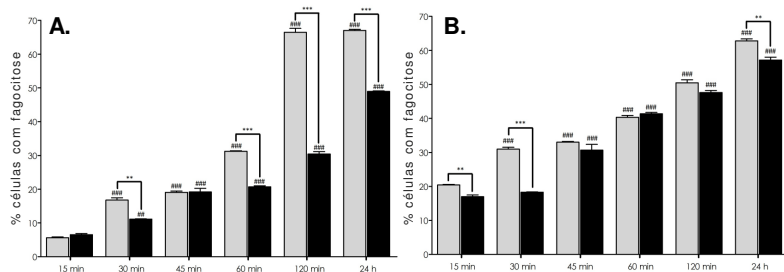


Figura 2. Cinética da fagocitose *in vitro*. Colunas cinzas e pretas indicam, respectivamente, grupo normal e grupo knockout. **A.** Partículas de zircônio. **B.** Partículas de titânio. #: significativamente diferente do momento 15 minutos do mesmo grupo. *: os grupos normal e knockout são significativamente diferentes entre si no dado momento. (** ou ***: P < 0,01; ### ou ****: P < 0,001).

As partículas de zircônio são efetivamente reconhecidas e fagocitadas (Figura 1.) por macrófagos murinos. Para ambas partículas, a porcentagem de fagocitose é estatisticamente maior no grupo normal, do que o grupo knockout (Figura 2.). A menor velocidade e capacidade de fagocitose no grupo knockout indica que a ausência de TLR4 limita a fagocitose de partículas de zircônio. Já para as partículas de titânio, o grupo normal apresenta uma fagocitose mais rápida até o momento 30 minutos, indicando que o TLR4 está relacionado com uma resposta rápida à fagocitose de partículas de titânio.

A fagocitose das partículas de zircônio ocorre com maior velocidade que das partículas de titânio nas condições normais (grupo normal). A fagocitose no grupo knockout, comparado com o grupo normal, para as partículas de titânio, teve uma diminuição média de 4,32±1,18%, enquanto, para as partículas de zircônio, a diminuição média foi de 11,54±0,68%, demonstrando que o efeito da ausência do TLR 4 na porcentagem da fagocitose das partículas foi mais intenso para as partículas de zircônio, do que para as partículas de titânio. As diferenças das cinéticas de fagocitose das partículas de titânio e zircônio, talvez se deva à diferente composição dos biomateriais.

Outros receptores celulares devem estar envolvidos no reconhecimento das micropartículas de zircônio e titânio, provavelmente outros TLRs. Mas, certamente, o TLR4 participa do reconhecimento e internalização das partículas, e sua sinalização intracelular, muito provavelmente, contribui para a síntese de citocinas pró-inflamatórias, que resultará no processo de osteólise com perda do implante.

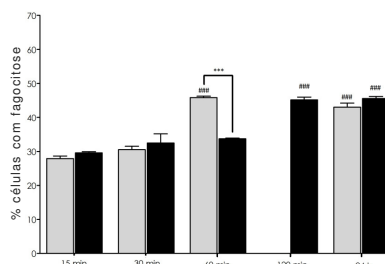


Figura 3. Cinética da fagocitose *in vivo* de partículas de zircônio. Colunas cinzas e pretas indicam, respectivamente, grupo normal e grupo knockout. #: significativamente diferente do momento 15 minutos do mesmo grupo. *: os grupos normal e knockout são significativamente diferentes entre si no dado momento. (** ou ***: P < 0,001).

No experimento *in vivo*, no grupo normal também se observou uma maior fagocitose do que no grupo knockout. As diferentes cinéticas de fagocitose das partículas de zircônio observadas nos experimento *in vitro* (Figura 2.A.) e *in vivo* (Figura 3.), talvez se devam ao constante fluxo migratório das células fagocitárias na cavidade peritoneal, que renova o pool dessas células.

Conclusão

- Partículas de biomateriais são efetivamente reconhecidas e fagocitadas por macrófagos murinos.
- As partículas de titânio e zircônio apresentam cinéticas diferentes de fagocitose.
- Há diferenças entre as cinéticas de fagocitose *in vitro* e *in vivo* das partículas de zircônio.
- O TLR 4 contribui para a fagocitose de partículas de zircônia e titânio, podendo contribuir para o afrouxamento asséptico de implantes.
- Outros receptores participam do reconhecimento e internalização destas partículas.