

Introdução: A linhagem de glioma C6 apresenta diferentes características morfológicas e fisiológicas de acordo com o número de passagens em cultivo. As passagens recentes são semelhantes à glioblastomas, enquanto as tardias assemelham-se à astroglia madura. A literatura demonstra que o glutamato apresenta um papel fundamental na proliferação e invasão de glioblastomas. Além disso, a manutenção dos níveis extracelulares deste aminoácido no Sistema Nervoso Central é realizada, principalmente, pelas células gliais. Desta forma, o objetivo deste trabalho é investigar e comparar alguns parâmetros do sistema glutamatérgico entre passagens recentes e tardias de culturas da linhagem C6.

Métodos: As passagens recentes (6^a a 15^a) e tardias (a partir da 100^a) foram cultivadas em DMEM 5% SFB em ar/CO₂ (95:5). A captação dos aminoácidos foi realizada utilizando L-[³H]-Glu ou D-[³H]-Asp em HBSS. A inibição da captação foi realizada adicionando antagonistas específicos dos transportadores de glutamato (PDC 100μM ou TBOA 100μM). A liberação do [³H] proveniente da captação dos aminoácidos foi avaliada, primeiramente, incubando as células em HBSS contendo L-[³H]-Glu ou D-[³H]-Asp durante 1h a 37°C. Após, as culturas foram incubadas por mais 1h a 37°C em L-Glu ou D-Asp em HBSS. A radioatividade intra e extracelular foi avaliada por cintilação e as proteínas quantificadas pela técnica de Peterson. Também foi avaliado o imunoconteúdo dos transportadores de glutamato (GLAST, GLT-1 e EAAC1), a integridade de membrana por incorporação de iodeto de propídio e a senescência celular por marcação da β-galactosidase.

Resultado: Ambas as culturas apresentaram aumento tempo-dependente do conteúdo intracelular de [³H] derivado da captação de L-[³H]-Glu, atingindo platô em 2h. Porém, as passagens recentes apresentaram uma radioatividade intracelular 55% maior que as tardias (P<0,001, two-way ANOVA, n=4-14). As duas culturas expressaram somente o transportador EAAC1, cujo imunoconteúdo foi similar entre elas. Ambas as passagens apresentaram aumento tempo-dependente do conteúdo intracelular de [³H] proveniente da captação de D-[³H]-Asp, porém, sem atingir platô. Nas passagens recentes, essa radioatividade intracelular foi 30% maior até 2h em relação às tardias (P<0,05, two-way ANOVA, n=8). A captação dos aminoácidos foi inibida tanto por PDC quanto por TBOA em ambas as passagens. Nas duas culturas, aproximadamente 50% do [³H] derivado da captação de L-[³H]-Glu foi liberado para o meio extracelular, entretanto não foi verificada liberação de D-[³H]-Asp. Não houve diferença significativa em relação à integridade de membrana e à senescência celular entre as culturas da linhagem C6.

Conclusão: As passagens recentes e tardias da linhagem de glioma C6 apresentaram perfis distintos de conteúdo intracelular de [³H] derivado da captação de L-[³H]-Glu. A menor quantidade de [³H] intracelular nas passagens tardias não está relacionada a diferenças na expressão de EAAC1, à perda na integridade de membrana, à senescência celular ou a um excesso de liberação da radioatividade. Mais experimentos serão necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares e celulares envolvidos no menor conteúdo intracelular de [³H] oriundo da captação de L-[³H]-Glu observado nas passagens tardias da linhagem C6 quando comparadas às recentes.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, FAPERGS, INCT em EN e IBN-Net.