

Com o objetivo de avaliar a proliferação de células prostáticas hiperplásicas por imunocitoquímica foi desenvolvida a técnica de preparação de lâminas utilizando células de cultura. A cultura é obtida por dissociação celular com colagenase, centrifugações com sucessivas filtrações e plaqueamento, sendo as células incubadas em estufa a 37°C com 5% CO₂. As placas são divididas em três grupos: um grupo controle; um grupo tratado com T2E-11; outro com DHTE-13. No 3º ou 6º dia de cultura, representantes de cada grupo são descoladas utilizando-se tripsina diluída com solução de Hank's, numa proporção de 0,25g de tripsina para 100ml de Hank's. Após todas as células estarem descoladas, acrescenta-se 4ml de meio 10% SBF para inibir a tripsina. Recolhe-se a suspensão celular em um tubo e centrifuga-se por 10 min a 1500 rpm. O sobrenadante é desprezado e o pellet é lavado duas vezes com 5ml de PBS e faz-se a contagem do número de células em câmara de Neubauer. Utiliza-se a concentração ideal de 7,5E4 cel/ml, sendo colocados 200 ul de suspensão em lâminas montadas e centrifuga-se na CITOSPEEN por 8 min a 400rpm. As lâminas passam por processo de fixação utilizando formaldeído 3,7% (15 min), PBS (10 min), acetona (4 min) e são armazenadas em solução de preservação. A partir do material obtido com esta técnica podem ser avaliados diferentes indicadores de proliferação e diferenciação celular como KY-67 e fosfatase alcalina.