



Memoria descriptiva que se acompaña a la Solicitud de Patente de Invención por VEINTE años, a favor de I. G. F a r b e n - i n d u s t r i e A k t i e n g e s e l l s c h a r t, residente en Frankiurt a.M. (Alemania), por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE SUSPENSIONES ESTABLES DE CÉLULAS DE TEJIDOS ANIMALES", presentada en el Ministerio de Industria y Comercio.

Para poder realizar en células vivas aisladas de tejidos las mismas reacciones y pruebas biológicas que en el material celular muerto, tiene, entre otras cosas, importancia el hacer estables en forma de células individuales las células aisladas de los órganos o tejidos o sus suspensiones, esto es el impedir las aglutinaciones o el deshacer las ya iniciadas.

Ahora bien, se ha descubierto que pueden obtenerse suspensiones no aglutinantes de células de tejidos en forma muy conveniente cuando el material celular fresco se dispersa en presencia de sustancias que reducen la tensión superficial o que impiden la coagulación de la sangre y no alteran nada o en grado insignificante las células, o cuando a las suspensiones ya existentes de células de tejidos animales se incorporan las indicadas sustancias.

1) Son sustancias adecuadas para reducir la tensión superficial por ejemplo los alcoholes elevados como el octílico, bencílico y similares. Como sustancias que impiden la coagulación de la sangre, se emplean por ejemplo los polianetolsulfonatos, la carbamida del ácido m-amino-benzoil-m-amino-p-metil-benzoil-1-nartil-amina-4,6,8-trisulfónico y también los extractos de órganos conocidos con los nombres de heparina, hirudina y novirudina.



En general conviene agregar a las suspensiones también  
medios de acción antiséptica. Como tales pueden emplearse por  
ejemplo el canrorato de hexametenotetramina, el triborato de  
hexametenotetramina, el anhidrometileno-citrato de hexametenotetramina y sustancias análogas así como el salicilato de renilo, la hexilresorcina, el oxibenzoato de metilo o de etilo etcétera.

Las sustancias para conseguir el fin perseguido no solo  
pueden incorporarse a las células aisladas, sino que la inclinación de éstas a aglutinarse puede también impedirse inyectando o propinando por la boca al animal de ensayo dichas sustancias algún tiempo antes de tomar el material celular. Los tejidos tomados luego del animal, después de preparados en suspensiones celulares no presentan ya tendencia a aglutinarse. Es preferible incorporar a las suspensiones también antisépticos adecuados de la clase arriba indicada en concentraciones que todavía no perjudiquen a las células, pero que impidan el crecimiento de las bacterias. Las sustancias arriba indicadas con acción  
antiséptica se emplean por ejemplo en tales cantidades que la suspensión preparada contenga de dichas sustancias 0,1 a 0,2%.

Sobre las suspensiones estabilizadas de esta clase de por ejemplo células embrionales, células normales o enfermas, células de cáncer, etcétera, se puede para hacer el ensayo y similar hacer actuar un suero adecuado, otras células, sustancias químicas, fermentos u hormonas. Contando el número de células antes y después del ensayo, midiendo el enturbiamiento o por métodos análogos se logra medir el aumento o decrecimiento de las células en estas suspensiones, o sea la acción destructora o multiplicadora de las células, o determinando las sustancias químicas originadas en las suspensiones se puede comprobar la destrucción de las células o la formación de productos de metabolismo, la acción de fermentos etcétera.



E J E M P L O 1.

55     Una suspensión celular aglutinada se reúne con una mezcla íntima de 0,25 cm<sup>3</sup> de alcohol octílico secundario, 0,75 cm<sup>3</sup> de alcohol etílico absoluto y 0,60 cm<sup>3</sup> de agua en una cantidad de 1 gota por cada cm<sup>3</sup> de suspensión. Los aglutinamientos se deshacen después de agitar bien la prueba, de suerte que las  
60     diversas células se vuelven a distribuir libre y homogéneamente y permanecen en este estado.

E J E M P L O 2.

   A una suspensión celular con tendencia a la aglutinación se agrega una gota de una disolución al 1% de hirudina por cada cm<sup>3</sup>  
65     y se agita bien. Las células quedan suspendidas separadamente en la suspensión y distribuidas uniformemente.

E J E M P L O 3.

   A una suspensión celular con tendencia a la aglutinación se incorpora por cada cm<sup>3</sup> una gota de una disolución acuosa al 0,1%  
70     de carbamida del ácido m-amino-benzoil-m-amino-p-metil-benzoil-l-nartilamina-4,6,8-trisulfónico. A pesar de un reposo de varios días a 37°C, no se presenta ninguna aglutinación de las células.

E J E M P L O 4.

   A un conejo con un tumor se inyectan por cada Kg de peso vivo  
75     15 mg. de polianetolsulfonato sódico intravenosamente. Después de 1  $\frac{1}{2}$  horas se mata el animal, caso de que no haya muerto de por sí, se aísla la masa del tumor y se elabora en una suspensión celular. La suspensión así obtenida no presenta ninguna o solo muy pequeña tendencia a la aglutinación.

=====



80

:--:--:--:--:--:--:--:--: N O T A :--:--:--:--:--:--:--:--:

Se reivindica como nuevo y de propia invención:

1. Un procedimiento para la preparación de suspensiones estables de células de tejidos animales, caracterizado porque el material celular fresco se dispersa en presencia de sustancias que reducen la tensión superficial ó impiden la coagulación de la sangre y no alteran esencialmente las células, preferentemente junto con medios de acción antiséptica, ó á las suspensiones ya existentes de células de tejidos animales se incorporan las indicadas sustancias.

2. Un procedimiento según lo reivindicado en el punto 1, caracterizado porque el material celular ya aglutinado se dispersa empleando las indicadas sustancias en presencia de líquidos acuosos.

3. Un procedimiento según lo reivindicado en el punto 1, caracterizado porque a un animal vivo, del que se ha de tomar el material celular destinado a preparar las suspensiones, se propinan algún tiempo antes de la toma las sustancias de la clase reivindicada en el punto 1.

Esta patente recae sobre "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE SUSPENSIONES ESTABLES DE CÉLULAS DE TEJIDOS ANIMALES", como queda descrito en la presente memoria y caracterizado en la anterior nota.

Madrid 16 de febrero de 1935.