

Anexo 1. – Evidencias experimentales

Material y métodos

Cultivo de células: Células de mesotelio peritoneal humano primario (Innoprot, Cat. No. P10770) fueron cultivadas en un medio de células mesoteliales con suplementos de crecimiento, 1% de penicilina/estreptomicina y 15% de FBS (Innoprot, Cat. No. P60167) a 37 °C y 5% de CO₂ según lo recomendado por el proveedor. Se utilizaron frascos de cultivo celular recubiertos de colágeno y placas de 96 pocillos (Corning).

La resazurina fue comprada a Sigma (Cat. No. R7017). Una solución 10x de Resazurin (4,5 mM) fue preparada en PBS. Se añadieron 10 µl de esta solución a cada pocillo y las células se incubaron durante 3 horas. Después se midió la fluorescencia (excitación/emisión 560/590 nm).

El resveratrol fue comprado a TRC (Cat. No. R150000). Se preparó una solución de DMSO al 20 mM. Para el ensayo se preparó una solución de trabajo de 100 µM en medio de cultivo celular (0,5% DMSO).

Las células de mesotelio peritoneal humano primario (HPMC) se cultivaron según las recomendaciones del proveedor, se inocularon en placas de cultivo de 96 pocillos y se realizó un cultivo sincronizado durante 24 h, y se trató la solución de diálisis peritoneal a 4,25% de glucosa durante 96 h. Se utilizaron pocillos de inoculación sin células como control blanco y el grupo de efecto del medio como control negativo.

Resultados:

50% de solución de diálisis peritoneal (PD) Physioneal (3,86% de glucosa (4,25% de Glu.H₂O), pH 7) en la supervivencia de células de mesotelio peritoneal humano primario (HPMC):

Las muestras que se muestran en la siguiente figura tienen el siguiente significado:

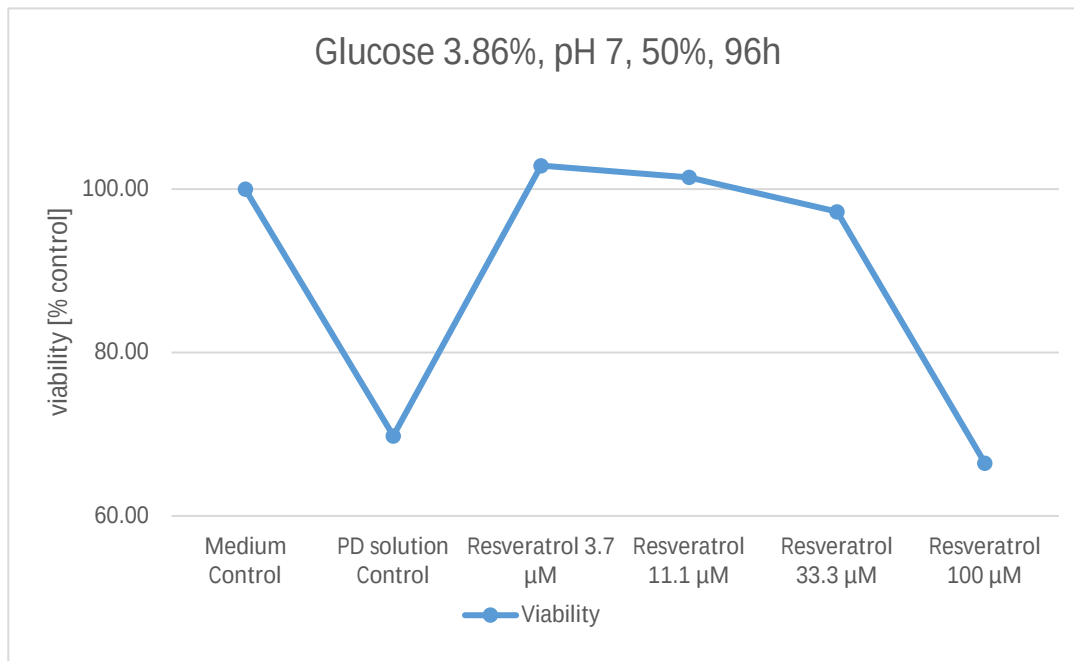
Control de medio: Sólo el medio de cultivo celular (*Medium control* en la figura)

Control PD: Solución de diálisis peritoneal sin resveratrol (*PD solution control* en la figura)

Resveratrol 3,7/11,1/33,3/100 μ M: Solución de diálisis con 3,7/11,1/33,3/100 μ M Resveratrol.

En la siguiente figura,

- "Viabilidad" (*viability*) refleja el efecto técnico de la presente invención (una mayor viabilidad significa una disminución de la citotoxicidad según la reivindicación 1)



En las condiciones probadas, el tratamiento de las células mesoteliales humanas (HMC) con una solución de diálisis peritoneal (DP) mostró un efecto citotóxico. La adición de 3,7 y 11,1 eliminó completamente la citotoxicidad. La concentración de 33,3 redujo la citotoxicidad, pero de una manera peor que 3,7 y 11,1 μ Mol/L. La concentración de 100 μ M aumentó la citotoxicidad.

50% de solución PD "convencional" StaySafe (3,86% de glucosa (4,25% Glu.H₂O), pH 5,5) en la supervivencia de células de mesotelio peritoneal humano primario (HPMC):

Las muestras que se muestran en la siguiente figura tienen el siguiente significado:

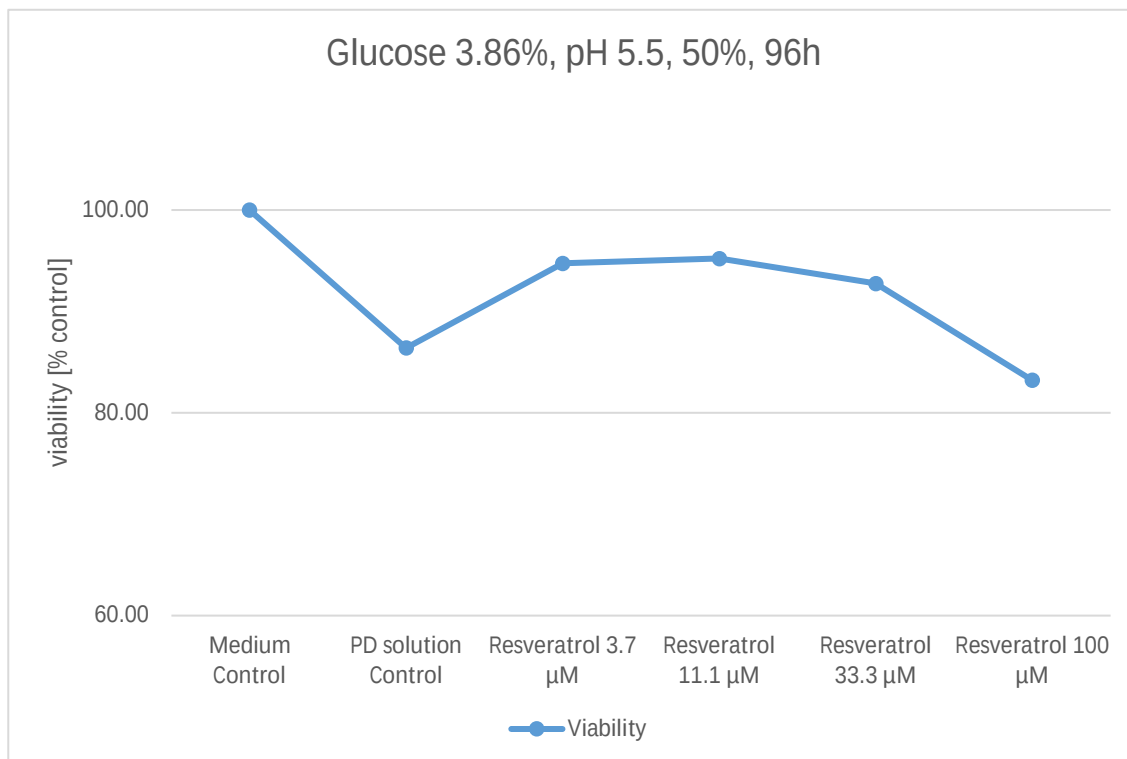
Control medio: Sólo el medio de cultivo celular (*Medium control* en la figura)

Control PD: Solución de diálisis peritoneal sin resveratrol (*PD solution control* en la figura)

Resveratrol 3,7/11,1/33,3/100 µM: Solución de diálisis con 3,7/11,1/33,3/100 µM Resveratrol.

En la siguiente figura,

- "Viabilidad" (*viability*) refleja el efecto técnico de la presente invención (una mayor viabilidad significa una disminución de la citotoxicidad según la reivindicación 1)



En las condiciones probadas, el tratamiento de las células mesoteliales humanas (HMC) con una solución de diálisis peritoneal (PD) tuvo un efecto citotóxico. La adición de 3,7 y 11,1 µM de resveratrol eliminó significativamente la citotoxicidad. La concentración de 33,3 redujo la citotoxicidad, pero de manera pero que 3,7 y 11,1 µMol/L. La concentración de 100 µM aumentó la citotoxicidad.

75% de Solución PD Extraneal (7,5% Icodextrina) sobre la supervivencia de células de mesotelio peritoneal humano primario (HPMC):

Las muestras que se muestran en la siguiente figura tienen el siguiente significado:

Las muestras que se muestran en la siguiente figura tienen el siguiente significado:

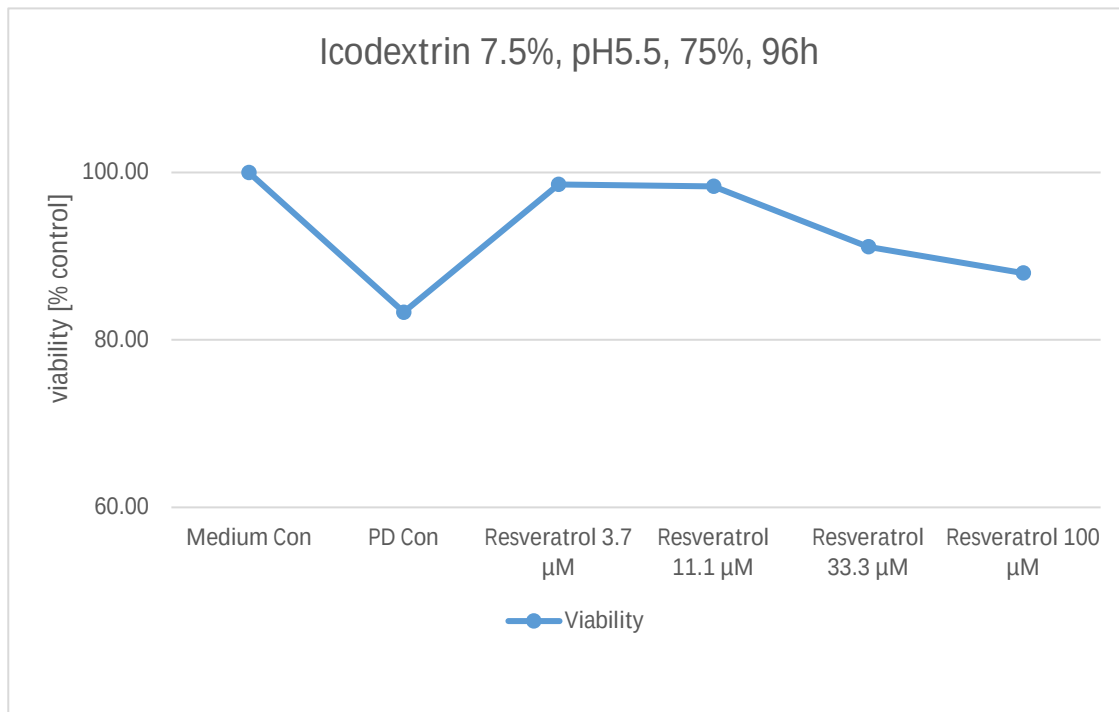
Control medio: Sólo el medio de cultivo celular (*Medium control* en la figura)

Control PD: Solución de diálisis peritoneal sin resveratrol (*PD solution control* en la figura)

Resveratrol 3,7/11,1/33,3/100 μM : Solución de diálisis con 3,7/11,1/33,3/100 μM Resveratrol.

En la siguiente figura,

- "Viabilidad" (*viability*) refleja el efecto técnico de la presente invención (una mayor viabilidad significa una disminución de la citotoxicidad según la reivindicación 1)



En las condiciones probadas, el tratamiento de las células mesoteliales humanas (HMC) con una solución de diálisis peritoneal (PD) tuvo un efecto citotóxico. La adición de 3,7 y 11,1 μM de resveratrol eliminó mayormente la citotoxicidad. La concentración de 33,3 y 100 μM disminuyó la citotoxicidad en menos de la mitad.