

VALIDACIÓN FUNCIONAL DEL ACTIVO MOSSCELLTECTM NO. 1 MEDIANTE EL USO DE PIEL HUMANA RECONSTITUIDA (RHE)

Los musgos desempeñan un papel fundamental en los ecosistemas. Contribuyen a la construcción y estructura del suelo, previenen la erosión, retienen la humedad y evitan su degradación. Son capaces de retener el exceso de agua y nutrientes existentes en el suelo y en la atmosfera, hasta 20 veces su peso, actuando como una esponja. De hecho, son las plantas que mejor soportan la falta de agua, pudiendo tolerar largos períodos de desecación mediante la ralentización de su metabolismo. Asimismo, proporcionan humus que ayuda al florecimiento de otras plantas y constituyen un importante refugio para los pequeños animales invertebrados.

JOSÉ LUIS MULLOR¹, DAVID GONZÁLEZ¹, ANA VIRGINIA SÁNCHEZ¹, DANIEL SCHMID², FRANZISKA WANDREY²

¹Bionos Biotech, S.L. ²Mibelle Biochemistry

Debido a su extrema capacidad de adaptación y de resistencia a entornos cambiantes, a partir de un cultivo biotecnológico de musgo se ha desarrollado MossCellTecTM No. 1, un ingrediente activo con propiedades antienviejimiento cuyo objetivo es mejorar la salud del núcleo celular y fortalecer la estructura de la piel. Una adecuada comunicación entre el núcleo y el citoplasma es esencial para el correcto funcionamiento celular. Con el paso del tiempo, esta comunicación intracelular se va deteriorando, provocando el envejecimiento de la célula. Por ello, preservar la salud del núcleo celular representa una estrategia novedosa para luchar contra el envejecimiento.

MossCellTecTM No. 1 se ha desarrollado biotecnológicamente a partir de un extracto celular de musgo *Physcomitrella*

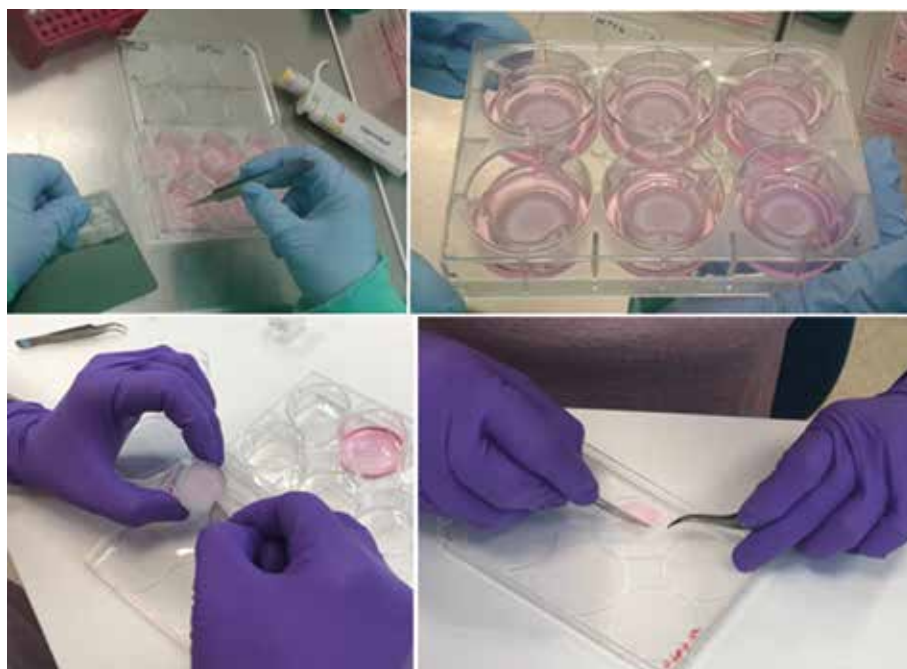


Figura 1: Diferentes imágenes correspondientes a la aplicación del tratamiento con MossCellTecTM No. 1 sobre las muestras de piel humana reconstituida (RHE) y al procesado de las muestras para su posterior evaluación.

patens, obtenido de forma reproducible y sostenible por cultivo celular.

Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que MossCellTecTM No. 1 ayuda a la piel

a adaptarse a rápidos cambios climáticos (calor/frío y alta/baja humedad relativa), resultando en un incremento significativo de la hidratación cutánea, homogeneidad y función barrera, tras 2 semanas

de tratamiento, a pesar de las condiciones climáticas cambiantes; así como reduce la profundidad de las arrugas tras 4 semanas de tratamiento. Por tanto, manteniendo un transporte eficiente de las moléculas que salen y entran del núcleo, y preservado la organización de la envoltura nuclear, se optimiza la comunicación entre el núcleo y resto de orgánulos permitiendo que las células pueden adaptarse más rápidamente a cambios ambientales, fortaleciendo nuestra piel.

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS PROTECTORES FRENTE A CAMBIOS AMBIENTALES EXTREMOS MEDIANTE ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE PIEL 3D

Los efectos protectores de MossCellTec™ No. 1 frente a variaciones climáticas extremas (temperatura y humedad) han

sido evaluados mediante el uso de un modelo de piel humana reconstituida (RHE) (Figura 1).

Para ello, la piel reconstituida fue tratada con el producto a la concentración 1 %, a nivel tópico y sistémico. Posteriormente, pequeños estreses climáticos se aplicaron para simular condiciones de verano (calor y humedad: 40°C, 80% humedad relativa) durante 30 minutos, 3 veces en un período de 36 horas; o invierno (frío y sequedad: 10°C, 40 % humedad relativa) durante 15 minutos, 3 veces en un período de 36 horas. Por último, las muestras fueron procesadas para tinción estructural de hematoxilina-eosina (H-E).

La tinción H-E ha mostrado que los cambios climáticos, especialmente las condiciones invernales de frío y sequedad, provocan daños en la piel, mostrando una

notable desorganización estructural con aparente reducción en la densidad de las fibras de la matriz dérmica, mayormente en la dermis. No obstante, el tratamiento previo con MossCellTec™ No. 1 protegió de estos cambios, de manera que la estructura morfológica 3D de la piel no varía significativamente, en relación con el control sin tratar; como se muestra en la Figura 2. Por tanto, gracias al tratamiento con el activo, las células de la piel son capaces de adaptarse más eficientemente a los estres climático provocados.

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS PROTECTORES MEDIANTE CUANTIFICACIÓN DEL GROSOR DEL ESTRATO CÓRNEO POR ANÁLISIS DE IMAGEN

Mediante análisis de imagen con el software ImageJ, se llevó a cabo la

ASESORAMIENTO TÉCNICO - LEGAL SANITARIO

Nuestra propuesta: SOLUCIONES

Trámites relacionados con la **puesta en el mercado de :** productos cosméticos, productos sanitarios, dentífricos, plantas medicinales, alimentación, complementos alimenticios, Códigos Nacionales de parafarmacia.

Documentación necesaria para la **obtención de licencias** sanitarias de funcionamiento de instalaciones de fabricación, almacenaje, importación y distribución de las empresas biosanitarias.

Asesoramos y/o preparamos la **documentación de calidad** necesaria para obtener la **marca CE** de los productos sanitarios o para la implementación de los sistemas de calidad en los productos sanitarios o para la implementación de las BPPC, NCF, ISO, HPCC

**M
CAMP S .**
GABINETE TÉCNICO FARMACÉUTICO
DESDE 1991

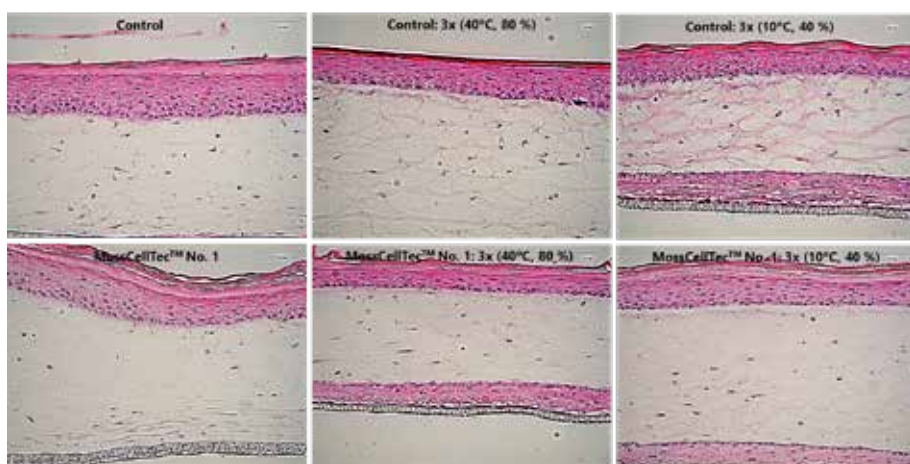


Figura 2: Imágenes correspondientes a las diferentes muestras de piel 3D, obtenidas con mediante microscopía confocal, tras tinción hematoxilina-eosina para el control sin tratar; la piel tratada con MossCellTec™ No. 1; el control sometido a condiciones de calor-humedad (3 veces de 40°C y 80% humedad relativa); la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de calor-humedad; el control sometido a condiciones de frío-sequedad (3 veces de 10°C y 40% humedad relativa) y la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de frío-sequedad.

cuantificación del grosor del estrato córneo, a partir de las muestras anteriores. Como se muestra en la Figura 3, los resultados indican que las condiciones de calor-humedad y frío-sequedad parecen provocar daño celular, reduciendo el grosor del estrato córneo en un $41,7 \pm 22,4 \%$ y $46,9 \pm 21,6 \%$, respectivamente, debido a que los resultados no son estadísticamente significativos ($p > 0,05$). Cuando, previamente, se aplica el tratamiento con MossCellTec™ No. 1 a concentración 1 %, los resultados muestran que el producto protege significativamente de la reducción de grosor provocada por las condiciones de frío-sequedad sobre el estrato córneo en un $37,1 \pm 9,4 \%$; mientras que no da lugar a efectos significativos sobre la reducción provocada por las condiciones de calor-humedad.

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ADAPTATIVOS AL ESTRÉS CLIMÁTICO MEDIANTE EVALUACIÓN DE LCE1A (LATE CORNIFIED ENVELOPE 1A)

LCE1A (Late Cornified Envelope 1A) es una proteína estructural que se

expresa en el estrato córneo y que se utiliza como biomarcador de estrés, ya que su expresión aumenta en situaciones ambientales cambiantes, especialmente cuando el clima es caluroso y húmedo. Mediante el marcaje con anticuerpos, es posible detectar la

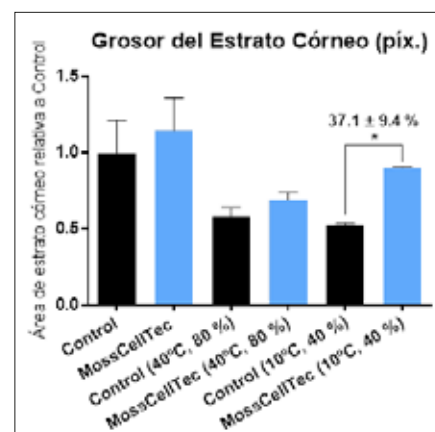


Figura 3: Gráfico de barras mostrando el área de estrato córneo relativa al control, tras cuantificación por análisis de imagen, para el control sin tratar; la piel tratada con MossCellTec™ No. 1; el control sometido a condiciones de calor-humedad (3 veces de 40°C y 80% humedad relativa); la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de calor-humedad; el control sometido a condiciones de frío-sequedad (3 veces de 10°C y 40% humedad relativa) y la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de frío-sequedad.

* Representa significancia estadística con p value $< 0,05$.

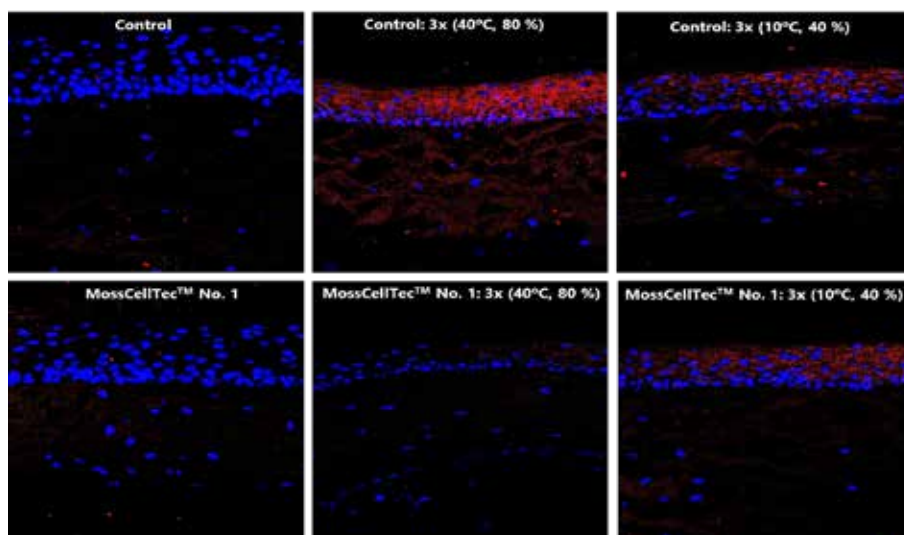


Figura 4: Imágenes correspondientes a las diferentes muestras de piel 3D obtenidas con el microscopio confocal, tras tinción con DAPI (azul) y LCE1A (rojo) para el control sin tratar; la piel tratada con MossCellTec™ No. 1; el control sometido a condiciones de calor-humedad (3 veces de 40°C y 80% humedad relativa); la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de calor-humedad; el control sometido a condiciones de frío-sequedad (3 veces de 10°C y 40% humedad relativa) y la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de frío-sequedad.

expresión de LCE1A por inmunofluorescencia en las muestras de piel, cuantificando así su expresión mediante análisis de imagen.

Los resultados muestran que los cambios en las condiciones ambientales, calor-humedad y frío-sequedad, estimulan significativamente la expresión de LCE1A en $11,4 \pm 2,5$ veces y $9,0 \pm 2,2$ veces, respectivamente. Por su parte, cuando las muestras fueron previamente tratadas con MossCellTec™ No. 1, se observó un efecto protector significativo en las condiciones de calor-humedad, reduciendo los niveles de LCE1A en $11,0 \pm 2,6$ veces ($p < 0,01$). En el caso de las muestras sometidas a frío-sequedad la expresión de LCE1A se redujo en $4,4 \pm 2,7$ veces a pesar de que los resultados no son estadísticamente significativos; como se muestra en las Figuras 4 y 5.

LAS CONDICIONES DE CALOR-HUMEDAD DISMINUYEN SIGNIFICATIVAMENTE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES *LAMA2* Y *LAMB1*, EN COMPARACIÓN CON EL GRUPO CONTROL; MIENTRAS QUE EL TRATAMIENTO CON MOSSCELLTECTM NO. 1 NO DA LUGAR A UNA PROTECCIÓN SIGNIFICATIVA

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ADAPTATIVOS MEDIANTE CUANTIFICACIÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA POR PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL (RT-QPCR)

Por último, los efectos sobre la piel provocados por los cambios en las condiciones ambientales, así como por el tratamiento previo con MossCellTec™

No. 1, han sido evaluados mediante la cuantificación de la expresión de *LAMA2* (*Laminin subunit Alpha 2*), *LAMB1* (*Laminin subunit beta 1*) y *LCE6A1* (*Late cornified envelope 6 alpha 1*) por PCR cuantitativa tras transcriptasa reversa (RT-qPCR). *LAMA2* y *LAMB1* son genes que codifican para lamininas estructurales mayoritariamente presentes en la membrana basal, encargadas de la cohesión, adhesión, migración y organización celular. Por su parte, *LCE6A1* es uno de los genes que codifican para la proteína LCE1A, previamente mencionada.

Las muestras de piel, previamente congeladas, fueron procesadas para la obtención del RNA. La idoneidad de cada pareja de *primers* y la eficiencia y especificidad en la amplificación, fueron evaluadas antes de proceder con la cuantificación. El análisis de los datos se llevó



I+D+i

entema
Laboratorios

COSMÉTICOS

COMPLEMENTOS ALIMENTICIOS

ACONDICIONADO SECUNDARIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

OUR FACTORY YOUR TEAM

PRODUCTOS SANITARIOS

Ensayos de estabilidad y fotoestabilidad en cámaras climáticas (Normativa ICH)



Laboratorios Entema S.L.
Passatge Llobregat Nau 8
08184, Palau-solità i Plegamans
Barcelona – España

T +34 93 864 46 96
entema@entema.es
www.entema.es

Certificación: ISO 9001:2008,
ISO 13485:2003, ISO 22716:2007 y GMP's

a cabo mediante el método Pfaffl, para calcular la expresión del gen relativa a Actina (gen de referencia).

Los resultados muestran que las condiciones de calor-humedad disminuyen significativamente la expresión de los genes *LAMA2* y *LAMB1*, en comparación con el grupo control; mientras que el tratamiento con MossCellTec™ No. 1 no da lugar a una protección significativa. En paralelo, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos ($p > 0,05$), los datos indican que las condiciones de calor-humedad parecen incrementar la expresión de *LCE6A1*, y el pre-tratamiento con MossCellTec™ No. 1 protege de dicho incremento. Del mismo modo, las condiciones de frío-sequedad parecen disminuir la expresión de los genes *LAMA2* y *LAMB1* ($p > 0,05$), mientras que el pre-tratamiento con MossCellTec™ No. 1 evita

A PARTIR DE UN CULTIVO BIOTECNOLÓGICO DE MUSGO (*PHYSCOMITRELLA PATENS*), REPRODUCIBLE Y SOSTENIBLE, SE HA DESARROLLADO MOSSCELLTECTM NO. 1, UN INGREDIENTE ACTIVO CON PROPIEDADES ANTIENVEJECIMIENTO CUYO OBJETIVO ES MEJORAR LA SALUD DEL NÚCLEO CELULAR Y FORTALECER LA ESTRUCTURA DE LA PIEL

significativamente esta reducción, manteniendo unos niveles de expresión

similares a los del control sin tratar. Por su parte, la expresión de *LCE6A1* se ve significativamente incrementada en estas condiciones, mientras que el pre-tratamiento protegió significativamente de las mismas; como se muestra en la Figura 6.

CONCLUSIÓN

Los musgos constituyen una de las primeras plantas terrestres que se diversificaron y conquistaron la Tierra, colonizando las regiones húmedas del planeta, hace unos 450 millones de años. Debido a su extrema capacidad de adaptación

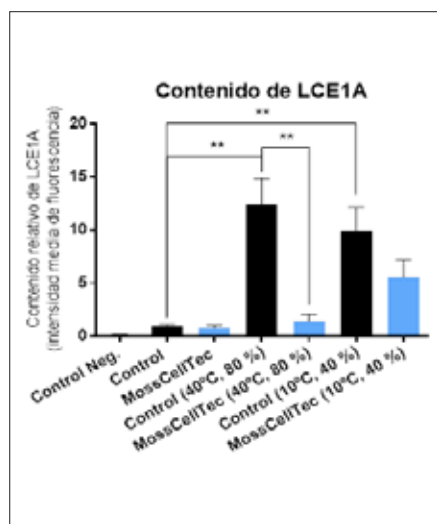


Figura 5: Gráfico de barras mostrando la expresión de LCE1A relativa al control, tras cuantificación por análisis de imagen, para el control sin tratar; la piel tratada con MossCellTec™ No. 1; el control sometido a condiciones de calor-humedad (3 veces de 40°C y 80% humedad relativa); la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de calor-humedad; el control sometido a condiciones de frío-sequedad (3 veces de 10°C y 40% humedad relativa) y la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de frío-sequedad. ** Representa significancia estadística con p value $< 0,01$.

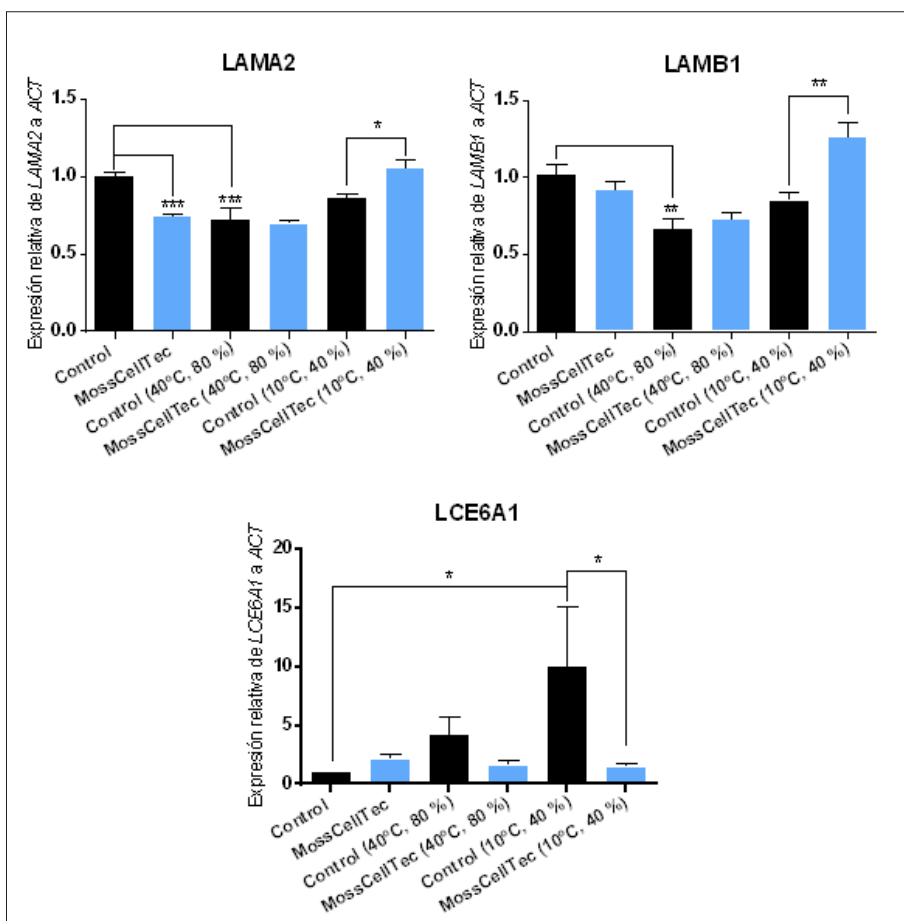


Figura 6: Gráfico de barras mostrando la expresión de los genes *LAMA2*, *LAMB1* y *LCE6A1* relativa al control de Actina, tras cuantificación por RT-qPCR, para el control sin tratar; la piel tratada con MossCellTec™ No. 1; el control sometido a condiciones de calor-humedad (3 veces de 40°C y 80% humedad relativa); la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de calor-humedad; el control sometido a condiciones de frío-sequedad (3 veces de 10°C y 40% humedad relativa) y la piel tratada con MossCellTec™ No. 1 previamente a las condiciones de frío-sequedad. * Representa significancia estadística con p value $< 0,05$. ** Representa significancia estadística con p value $< 0,01$. *** Representa significancia estadística con p value $< 0,001$.

ESTUDIOS *IN VITRO* SOBRE PIEL HUMANA RECONSTITUIDA (RHE) HAN DEMOSTRADO QUE MOSSCELLTECTM NO. 1 AYUDA A LA PIEL A ADAPTARSE A RÁPIDOS CAMBIOS CLIMÁTICOS (CALOR/ FRÍO Y ALTA/BAJA HUMEDAD RELATIVA), PROTEGIENDO DE LOS DAÑOS ESTRUCTURALES PROVOCADOS

y de resistencia a entornos cambiantes, a partir de un cultivo biotecnológico de musgo (*Physcomitrella patens*), reproducible y sostenible, se ha desarrollado MossCellTec™ No. 1, un ingrediente activo con propiedades antienvjecimiento cuyo objetivo es mejorar la salud del núcleo celular y fortalecer la estructura de la piel.

Estudios *in vitro* sobre piel humana reconstituida (RHE) han demostrado que MossCellTec™ No. 1 ayuda a la piel a adaptarse a rápidos cambios climáticos (calor/frío y alta/baja humedad relativa), protegiendo de los daños estructurales provocados, incrementando el grosor del estrato córneo, reduciendo la expresión de biomarcadores de estrés (LCE1A) y protegiendo de los cambios a nivel génico (LAMA2, LAMB1 y LCE6A1), ocasionados por situaciones extremas de temperatura y humedad.

De esta forma, se demuestran las propiedades protectoras, adaptativas y antienvjecimiento de este ingrediente biotecnológico enfocado a tratamientos antiedad, fórmulas reparadoras y protectoras, así como productos hidratantes para cuidado facial. Debido a sus capacidades y a los estudios de evaluación funcional desarrollados, MossCellTec™ No. 1 ha sido galardonado en 2018 con los premios a Mejor Ingrediente Innovador en in-cosmetics Global Amsterdam y BSB Innovation Prize Awards ◀◀

Logesta

Logista



Tecnología que revolucionará el transporte para la Industria de Perfumería y Cosmética



Flota Propia de más de **500 vehículos**



Control de Temperatura On-line, 24 x 7

Sistema Predictivo que permite anticiparnos a posibles desviaciones.



Cobertura Europea

Red propia de filiales y cobertura en toda la UE.



Tecnología de vanguardia

Control Tower, Trazabilidad online, KPI'S.



Seguridad. Geofencing.

Conexión a Central Receptora de Alarmas Propia.

www.logesta.com

