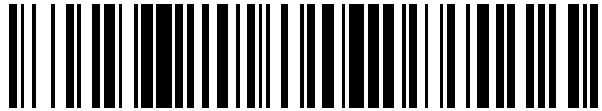


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 129**

21 Número de solicitud: 201630326

51 Int. Cl.:

A61K 8/73 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

18.03.2016

43 Fecha de publicación de la solicitud:

19.09.2017

Fecha de la concesión:

09.04.2018

45 Fecha de publicación de la concesión:

16.04.2018

73 Titular/es:

INDUSTRIAS ASOCIADAS, S.L. (100.0%)

Ctra. Alpedrete, 6

28400 COLLADO VILLALBA (Madrid) ES

72 Inventor/es:

THIEBAUT ESTRADA, Alberto;

THIEBAUT ESTRADA, Cristina y

SÁNCHEZ CUENDIAS, Lorena

74 Agente/Representante:

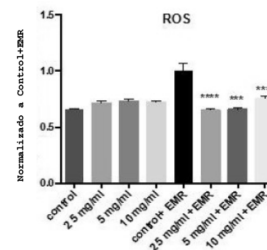
CAPITAN GARCÍA, Nuria

54 Título: **USO DE GLUCÓGENO DE ORIGEN MARINO PARA LA FABRICACIÓN DE COMPOSICIONES TÓPICAS PARA MINIMIZAR ALTERACIONES BIOLÓGICAS EN LA PIEL DEBIDAS A RADIACIONES ELECTROMAGNÉTICAS EMITIDAS POR DISPOSITIVOS ELECTRÓNICOS**

57 Resumen:

La presente invención se refiere al uso de glucógeno de origen marino para la fabricación de composiciones tópicas para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos, tales como teléfonos móviles, tabletas u ordenadores portátiles, así como a un procedimiento para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos, tales como teléfonos móviles, tabletas u ordenadores portátiles, comprendiendo el procedimiento la aplicación tópica de una composición que incluye glucógeno de origen marino.

Figura 1
Acumulación de ROS en las muestras tratadas con Glucógeno marino e irradiadas o no con REM.
EMR = Electro radiación magnética. * significación estadística con un 95% de confianza; ** 99% de confianza; *** 99,9% de confianza; **** 99,99% de confianza



ES 2 633 129 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

DESCRIPCIÓN

5 Uso de glucógeno de origen marino para la fabricación de composiciones tópicas para minimizar alteraciones biológicas en la piel debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos

OBJETO DE LA INVENCION

10 La presente invención se refiere al uso de glucógeno de origen marino para la fabricación de composiciones tópicas para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos, tales como teléfonos móviles, tabletas u ordenadores portátiles.

15 La invención se refiere también a un procedimiento para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos, tales como teléfonos móviles, tabletas u ordenadores portátiles, comprendiendo el procedimiento la aplicación tópica de una composición que incluye glucógeno de origen marino.

20

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Es bien sabido que los dispositivos electrónicos en general producen campos eléctricos y electromagnéticos magnéticos de distintas frecuencias. Actualmente los aparatos eléctricos,
25 electrónicos, y su aplicación a la comunicación, son indispensables tanto para nuestro trabajo como en nuestras actividades diarias y, por tanto, pueden afectar a nuestra salud. Estamos expuestos diariamente a diversas radiaciones derivadas del uso de la tecnología (teléfonos móviles, antenas de radio y televisión, torres de electricidad) en todos los ámbitos de nuestra vida. Este fenómeno de contaminación electromagnética se denomina
30 habitualmente “electrosmog” o “niebla eléctrica”: presencia de contaminación electromagnética artificial en el aire, agua y materiales, con un potencial riesgo para la salud humana. En el transcurso del día nuestro cuerpo recibe una cantidad significativa de radiaciones procedentes de ordenadores, teléfonos móviles, transmisiones vía inalámbrica como Bluetooth, o Wifi y similares. Estas radiaciones electromagnéticas atraviesan paredes
35 y nuestros propios cuerpos, afectando a nuestro organismo hasta el nivel celular.

La afectación biológica debida a la “niebla electrónica” viene siendo observada y estudiada desde hace décadas y comienza a tener especial relevancia en la actualidad, con la aparición de los primeros casos clínicos diagnosticados. La forma y la intensidad con que las radiaciones electromagnéticas pueden perjudicar a nuestro organismo dependen del sistema inmunológico de cada organismo y de factores tales como las actividades diarias, la alimentación, actividades físicas, la edad y el descanso que le damos a nuestro cuerpo.

De acuerdo con el investigador alemán, Dr. U. Warnke Ph.D en la Universidad de Saarlandes (Warnke U, Bees, Birds and Mankind, Destroying natura by Electromog: Effect of Wireless Communication Technologies, 2009), la síntesis de energía celular (ATP) se ve afectada por los campos electromagnéticos, causando deficiencia de energía.

Nuestro sistema de intercambio de información celular se basa en impulsos eléctricos débiles, del orden de los 70-80 mV. En este microcosmos, cada molécula y electrón tiene su propio lugar y campo de energía (Warnke 1993). La membrana celular, que funciona como una bomba de iones y que es responsable de mantener el entorno celular proporcionando la energía que necesita a través de ATP, fallará de forma parcial o completa, provocando trastornos de largo alcance en la célula, hasta su total destrucción. Mínimos cambios en los campos electromagnéticos pueden perturbar de forma sostenible la membrana celular. Esto afecta principalmente a la producción de energía de la célula a través de la adenosin-trifosfato (ATP. Esta es la causa del cada vez más común Síndrome de Déficit Patológico de Energía (DPE), que es idéntico al Síndrome de Fatiga Crónica, descrito por primera vez en EEUU (Warnke, 1989). La radiación viaja; se emite desde objetos con alto potencial y es absorbida por los de bajo potencial. El sistema de comunicación celular, tanto interno como externo es alterado cuando se ve sometida a estos campos electromagnéticos de alto potencial, provocando una reacción biológica en cadena, incluyendo el aumento de la división celular (Adey, 1986). Bert Sakmann y Erwin Neher descubrieron lo sensibles que son las funciones bioeléctricas en el cerebro y en el sistema nervioso, y que pueden ser perturbadas y modificadas por la influencia electromagnética ambiental. Los dos científicos demostraron durante muchos años de investigación, que las funciones de nuestro organismo son controladas por corrientes eléctricas increíblemente pequeñas. Trastornos en estos procesos bioeléctricos, debido a las influencias ambientales electromagnéticas, se traducen en el mal funcionamiento de nuestro complejísimo sistema de regulación, que a su vez implica muchos trastornos funcionales.

El biofísico Dr. Lebrecht de Klitzing, investigó en la Universidad de Lübeck, que el cuerpo reacciona de una forma particularmente sensible a las pulsaciones de baja frecuencia, que

son moduladas sobre la onda portadora de alta frecuencia en el caso de la comunicación móvil GSM. Patrones periódicos de baja frecuencia recurrentes son señales biológicas, que desencadenan funciones importantes para el metabolismo, el sistema hormonal, el sistema inmune, para los ciclos sueño-vigilia, etc. Debido a los pulsos de baja frecuencia
5 incorporados en las redes de alta frecuencia de la telefonía móvil, se produce un descarrilamiento múltiple de nuestro "biorritmo" en áreas del tronco encefálico, con consecuencias como una disminución dramática de nuestro sistema inmunológico, lo que aumenta significativamente el riesgo de cáncer o anomalías de las membranas celulares como consecuencia de cambios de los niveles de calcio en el organismo. Lo interesante de
10 estos resultados es, que campos de radiación muy bajos, lejos de cualquier reacción física explicable según los conocimientos actuales, interfieren en los sistemas biológicos sutiles (Klitzing, 1998).

Se han podido medir cambios en el flujo de iones calcio en el cerebro con diferencias de
15 potencial de tan sólo $0,001 \mu\text{W}/\text{m}^2$. Muchos procesos de regulación importantes en el cuerpo humano dependen de los iones de calcio y por lo tanto se ven afectados. Por ejemplo: la excreción de hormonas líquidas, que ayudan a la transferencia de estímulos nerviosos; trastornos cerebrales y otros cambios patológicos en el cerebro; debilitamiento del sistema inmunitario; aceleración del crecimiento de células cancerosas, particularmente de tumores
20 cerebrales; cambios en el comportamiento de los seres humanos y los animales; interferencias en la información genética; cambios genéticos; deformaciones (Kas, 1989). El físico alemán Albert Popp fue capaz de demostrar que las células del cuerpo se comunican a través de "radiaciones de biofotones" ultra-débiles. Los biofotones, son ondas electromagnéticas débiles emitidas por los sistemas biológicos. Se trata de pares de
25 partículas diminutas de energía, de los cuales uno de ellos siempre se encuentra alojado en el ADN del núcleo de la célula. Una característica especial de los fotones es su oscilación de luz rectificada. Digamos que las células se comunican entre sí a través de rayos láser ultra-débiles. Una alteración celular con microondas tiene como consecuencia un mal funcionamiento de la membrana celular. La comunicación celular mediante biofotones se
30 detiene cuando su rectificación es perturbada por microondas. Esto provoca cambios en la información codificada en el ADN que puede tener graves consecuencias para el organismo: aunque los genes no han cambiado en su estructura, al igual que si de ingeniería genética se tratara, sí se ha modificado el contenido de su información. Si esto sucede por ejemplo en un gen supresor de tumores (TNF), éste ya no será eficaz en su función de evitar el
35 crecimiento masivo de células cancerosas (Popp, 1989).

En concreto en relación con las alteraciones de la piel, a lo largo de los últimos años se han llevado a cabo diversos ensayos *in vivo* en animales que demuestran diversas alteraciones como consecuencia de la exposición de la piel a campos electromagnéticos. Se ha observado la inducción de HSP27 (Heat Shock Protein 27) en células endoteliales humanas después de la exposición de 1 hora a 900 MHz de frecuencia (Leszczynski et al., Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: Molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation*, 2002, 70:120-1292002). También en fibroblastos de piel humana, Pacini et al. (2002) reportó que las frecuencias de radio a niveles no térmicos fueron capaces de inducir la expresión de ciertas HSPs. Lionel De Benetti et al. investigaron los fenómenos moleculares implicados en la epidermis humana reconstituida (EHR) expuesta a REM. El estudio fue realizado con un dispositivo antena que aseguraba la homogeneidad de la irradiación de 900 MHz REM, la frecuencia más utilizada por los teléfonos móviles (Laval y Levêque, 2000). Los cultivos se mantuvieron a una temperatura constante de 37°C durante la irradiación, para reducir al mínimo la respuesta de choque térmico (Rosdy y Clauss, 1990). Después de 6 horas de exposición de la EHR a REM, los queratinocitos se incubaron en condiciones de cultivo libres de REM antes de ser recogidos a las 2 y a las 18 horas con el fin de investigar tanto la respuesta celular temprana como la final respectivamente. Se observó que la exposición a REM redujo ligeramente el índice mitótico (del 47 al 35% queratinocitos). El ARN total de cada cultivo de queratinocitos fue posteriormente analizando para evaluar las variaciones transcriptómicas en 600 genes distintos de células de la piel y queratinocitos.

Tras el análisis, se observó claramente que la exposición a REM inducía cambios dramáticos en la síntesis de estos genes analizados, similares incluso a los producidos cuando la piel es sometida a factores muy estresantes como la radiación UV aguda (Enk et al., 2006). Se observó que el gen que codificaba para neuromedina B aumentaba su expresión hasta >1.700%.

La REM también aumentó la expresión de diversos proto-oncogenes lo que sugiere indirectamente la inducción de factores de transcripción que son potentes promotores de la expresión de genes proinflamatorios y genes relacionados con el estrés (Dai y Segre, 2004). La inducción de estos factores de transcripción también podría explicar la sobre-expresión de una variedad de genes que codifican para proteínas de shock térmico, ((HSP70, HSP47, HSP 40, HSP90A, HSPA5, y HSP90B) se incrementaron en niveles relativamente altos), proteínas relacionadas con procesos de cicatrización de heridas, y proteínas inflamatorias,

(la transcripción de los genes NOS-II IL-1R1, IL-2Ra, TNFR1, TGF- β RII sugieren una respuesta inflamatoria aguda inducida por REM, lo que se confirmó también por el aumento de los niveles de expresión de TNF-R1 en la superficie de los queratinocitos). La variación de la expresión de la mayoría de los genes mencionados anteriormente fue transitoria y volvió a sus valores normales 18 horas más tarde, sin embargo, pasadas estas horas de recuperación, se detectaron otro conjunto de genes relacionados con funciones celulares y de cicatrización de heridas que sugieren una reparación del tejido. Concluyendo, tanto en la fase temprana como en la final, se confirmó la inducción de genes que codificaban para la síntesis de factores de crecimiento necesarios para la cicatrización de heridas y reparación de tejidos. Además, la REM disminuyó la expresión de genes que codifican proteínas relacionadas con la estructura celular y varios enzimas importantes relacionados con el estrés oxidativo. Finalmente, la PCR y el análisis inmunohistoquímico de piel reconstituida confirmaron la disminución de la expresión de β -defensina-2 y citoqueratina-10 después de la exposición a REM, ambas proteínas relacionadas con el sistema inmune y las propiedades defensivas de la piel (Exposure to Electromagnetic Radiation Induces Characteristic Stress Response in Human Epidermis Journal of Investigative Dermatology (2008) 128, 743–746).

Por tanto, nuestra piel, además de estar sometida a numerosos factores externos que tienen una influencia negativa en su aspecto y rendimiento (aire-acondicionado, exposición solar, contaminación, agentes químicos y mecánicos, etc.) también está expuesta a una nueva forma de contaminación por ondas electromagnéticas. En consecuencia, la radiación electromagnética (REM) generada por diversas fuentes exógenas es un factor de estrés ambiental para la salud humana, y la piel, como barrera fisiológica, es el primer objetivo de esta irradiación. Así, algunas personas desarrollan rojeces en la piel o erupciones, que pueden ir acompañadas por una sensación de hormigueo en la piel, tanto en la cara como en otras partes del cuerpo. Además, se producen problemas oculares por sequedad de la mucosa.

El número de personas que sufren de este tipo de hipersensibilidad electromagnética está aumentando, ya que la exposición a la tecnología inalámbrica también está aumentando a un ritmo acelerado. En 2006, Hallberg y Oberfeld documentaron el aumento de casos de electro-hipersensibilidad (EHS) en la población. Los autores calcularon que para 2017, el 50% de la población padecería esta enfermedad (Hallberg O, Oberfeld G. Letter to the editor: will we all become electrosensitive? Electromagn Biol Med 2006; 25:189–91.). Según las últimas estimaciones la población electrosensible oscila ya entre el 3 y el 5%, lo que

eleva a unos 13 millones el número de europeos que sufren este mal. En la actualidad está considerada como enfermedad orgánica y está descrita por la Organización Mundial de la Salud.

5 En el documento de patente JP2003321373 se describe un activador celular para promover la producción de ATP que incluye como agente activo glucógeno, preferentemente extraído de mejillón. En la JP2002322078 se proporciona una composición que incluye un extracto y una fracción de extracción de *Puerariae Radix* y un glucógeno para mejorar una enfermedad inflamatoria de la piel.

10

En la EP06778904.0 se describe el uso de al menos un activador de la diferenciación epidérmica para luchar contra los efectos en la piel de las ondas electromagnéticas generadas por los teléfonos móviles, siendo dicho activador un extracto de origen vegetal o marino elegido entre un extracto de *Rhodiola rosea*, un extracto de *Thermus thermophilus*,
15 un extracto de *Cedrelopsis grevei*, un extracto de *Salicornia herbacea*, un extracto peptídico de avellana o butirato de caprililo, y aplicándose dicho activador de la diferenciación epidérmica en la piel en la forma de una composición cosmética.

15

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

20

La presente invención queda establecida y caracterizada en las reivindicaciones independientes, mientras que las reivindicaciones dependientes describen otras características de la misma.

25 A la vista de lo anteriormente enunciado, el objeto de la presente invención es el uso de glucógeno de origen marino para la fabricación de composiciones tópicas para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos. El uso según la invención evita o al menos mitiga estas alteraciones biológicas de la piel debidas a
30 las radiaciones electromagnéticas procedentes de dispositivos electrónicos.

30

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

35 Se complementa la presente memoria descriptiva, con un juego de figuras, ilustrativas de la invención y nunca limitativas de la misma.

La figura 1 es un diagrama de barras que representa la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en muestras tratadas con glucógeno marino e irradiadas o no con REM. Acumulación de ROS en las muestras tratadas con Glucógeno marino e irradiadas o no con REM. EMR = Electro radiación magnética; * significación estadística con un 95% de confianza; ** 99% de confianza; *** 99,9% de confianza; **** 99,99% de confianza.

La figura 2 es un gráfico de barras que representa las unidades relativas de luminiscencia en muestras normalizadas respecto al control. En esta representación se evidencia el aumento de la acumulación de ATP inducida por la REM.

La figura 3 es un gráfico de barras que representa las unidades relativas de luminiscencia en las muestras normalizadas con control irradiado. La gráfica pone de manifiesto la eficacia del tratamiento de irradiación que produce un aumento masivo de ATP y el efecto protector de la composición al contrarrestar este aumento.

EXPOSICIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A la vista de lo anteriormente enunciado, la presente invención se refiere al uso de glucógeno de origen marino para la fabricación de composiciones tópicas para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos.

A este respecto, en la presente descripción el término “composición tópica” se refiere a una composición de administración por vía tópica en cualquier forma galénica conocida por el experto en la materia y adecuada para la piel, pudiendo tratarse de una composición en forma de solución o suspensión acuosa, o de una solución o de una dispersión de tipo loción o suero, de una emulsión de consistencia líquida o semilíquida de tipo leche, obtenidas por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (emulsión aceite en agua: O/W) o a la inversa (agua en aceite: W/O), o de una emulsión del tipo crema OW o W/O o de un gel, o de una mascarilla. Igualmente, el término “composición tópica” incluye formas de administración tópica en espuma o en aerosol, comprendiendo también un agente propulsor a presión, parches dérmicos, apósitos dérmicos y similares que incluyen dicha composición. En el contexto de la invención, el término “radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos” se refiere a radiaciones electromagnéticas de entre 300 MHz y 300 GHz de frecuencia, esto es radiaciones dentro del rango de las microondas, preferentemente de 900 MHz.

Igualmente, en el contexto de la invención, el término “glucógeno marino” se refiere a glucógeno altamente purificado extraído de moluscos marinos.

5 A este respecto, el glucógeno desempeña un papel clave en la reparación y defensa epidérmica, acumulándose en las células epidérmicas durante la respuesta proliferativa derivada de una variedad de ataques, incluyendo traumas físicos, alteración del estrato córneo o exposición a la radiación. Lobitz y Holyoke (Lobitz (W.C.) Holyoke (J.B.), The histochemical response of the human epidermis to controlled injury: Glycogen. J. Invest. Dermatol., 22:189-198 (1954) realizaron un estudio detallado de la respuesta del glucógeno en una epidermis normal, tras realizar una lesión en el estrato córneo. El resultado de este estudio muestra que, tras la erosión, se produjo un aumento de la síntesis de glucógeno por las células epidérmicas. Las células epidérmicas acumularon glucógeno para organizar la defensa de la epidermis y su reparación.

15

Asimismo, el glucógeno es un agente anti-estrés específico de la piel, ya que está implicado no sólo en las actividades de restauración, sino también en las de defensa. Siempre que la epidermis esté sometida a una situación estresante, bien sea agredida, bien tenga que ser renovada o reparada, la actividad celular se dirige hacia la síntesis de glucógeno intracelular, ya que la producción y diferenciación de nuevas células y la síntesis de biomoléculas constitutivas necesitan energía. El glucógeno además reduce la liberación de LDH (Lactato deshidrogenasa) –un tipo de enzima liberada por las células cuando se exponen a factores estresantes como la radiación UV-B. La liberación de esta enzima es directamente proporcional al daño celular provocado (Lobitz (W.C.) Holyoke J.B., The histochemical response of the human epidermis to controlled injury: Glycogen. J. Invest. Dermatol., 22:189-198 (1954); Lobitz (W.C), Brophy (P.), Lerner (S.E.), Daniels (F.), Glycogen response of the human epidermal basal cell, Arch. Dermatol, 86:207-211 (1962); Halprin (K.M.), Ohkawara A., Glucose and glycogen metabolism in the human epidermis. J. Invest. Dermatol., 46:43 (1966); Hoopes (J.E.), I.M. (MJ), Glycogen in regenerating epithelium during wound healing. Surg. Forum, 24:523-525 (1973)).

En una forma de realización de la invención, la cantidad de glucógeno a emplear en la composición tópica de glucógeno según la invención está en el rango de entre 2 mg y 5 mg de glucógeno por ml de composición, preferentemente entre 2,5 y 5 mg/ml de composición.

35 En otra forma de realización de la invención, el glucógeno marino se refiere a glucógeno altamente purificado extraído de mitílicos, preferentemente de *Mytilus galloprovincialis*, ya

que la cantidad de esta macromolécula presente en estos organismos puede ser muy elevada según el momento del ciclo biológico en que se encuentre el individuo, llegando a alcanzar hasta un 28% de su peso seco.

- 5 Aún en otra forma de realización de la invención, las alteraciones en parámetros biológicos son la acumulación de especies de oxígeno reactivas (ROS) y/o el aumento de los niveles de ATP acumulado en el citosol celular.

10 Para evaluar los efectos derivados del uso de la composición se diseñó un modelo *in vitro* de exposición de una epidermis reconstituida a radiación electromagnética (REM) de una frecuencia específica. El objetivo del estudio realizado era evaluar el potencial del glucógeno marino como protector de los daños inducidos en la piel como consecuencia de la exposición a la REM. Estos se traducen en el aumento masivo de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) debido al estrés oxidativo al que se ven sometidas las células
15 bajo REM, y al aumento de los niveles de ATP implicados en la activación del proceso de autodestrucción celular.

Las mitocondrias constituyen la principal fuente de ROS. En condiciones normales, el oxígeno se reduce para producir agua. Sin embargo, en un porcentaje muy bajo de los
20 casos, los electrones pasan prematuramente a través de la cadena reduciendo la molécula de oxígeno de forma incompleta, generando así un radical superóxido (O_2^-). Las enzimas superóxido pueden inactivar determinadas proteínas, activando la vía de la peroxidación. Bajo condiciones de estrés específicas, esta última reacción es predominante y la célula termina por someterse a un proceso de apoptosis o muerte celular programada. Por tanto,
25 nuestro propio sistema de producción de energía es responsable de producir daño a los tejidos. Cuanta más energía generamos o cuanto más vivimos, más daño producimos a nuestras células. La principal fuente de radicales endógenos está en la mitocondria, membrana plasmática, retículo endoplasmático y peroxisomas. Sin embargo, varios estímulos exógenos como la radiación ionizante, la luz UV, el humo, la contaminación, los
30 procesos inflamatorios y algunas enfermedades causan la producción de radicales libres. Dependiendo de la gravedad de los daños provocados por los radicales libres en las membranas mitocondriales, la respuesta será diferente. En el caso de daños por fugas, la cadena de electrones de las membranas de las mitocondrias resultaría afectada, reduciéndose la síntesis de ATP y privando a la célula de energía. En casos de daños más
35 graves, las membranas mitocondriales y las enzimas oxidantes serían severamente afectadas, provocando la liberación de radicales libres (ROS).

Afortunadamente, nuestras propias células han desarrollado mecanismos de protección para procesar y minimizar los daños por ROS.

5 La enzima superóxido dismutasa (SOD), y las enzimas catalasa median la transformación de ROS en H₂O y otras moléculas antioxidante endógenas. También proporcionan protección mediante la eliminación de ROS desde el citosol. Además, las moléculas antioxidantes ingeridas a través de la dieta o contenidas en productos cosméticos pueden también ayudar a eliminar ROS de las células.

10

La liberación de ROS y el desequilibrio de ATP en el citosol, debido a la alteración de la estructura de las mitocondrias, aumenta la respuesta inflamatoria. De hecho, la liberación de ATP representa una evidencia de la desintegración celular, de daño mitocondrial y apoptosis. Bajo condiciones de cultivo estándar un incremento en el citosol de los niveles
15 totales de ATP celular es una medida del estado de la célula en cuanto a su viabilidad celular, proliferación, citotoxicidad o muerte celular.

15

Una REM constante, como la generada por un teléfono móvil, además de aumentar los niveles de ATP por encima de los valores beneficiosos, provoca daños en el ADN
20 indirectamente ya sea por la fuga de enzimas digestivas de los lisosomas o por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) a través mitocondrias y membranas plasmáticas dañadas (Verghese J. et al. (2012), *Biology of the Heat Shock Response and Protein Chaperones: Budding Yeast (Saccharomyces cerevisiae) as a Model System*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* June vol. 76 no. 2 115-1581; Yoon KJ Lee YT Han TR, Mechanism of functional recovery after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in
25 the subacute cerebral ischemic rat model: neural plasticity or antiapoptosis? *Exp Brain Res*. 2011 Oct;214(4):549-56. doi: 10.1007/s00221-011-2853-2. Epub 2011 Sep 9; Agarwal A et. al (2006) 'Relationship between cell phone use and human fertility: an observational study'. *Fertility and Sterility* 86 (3) Supplement 1 S283).

25

30 En este ensayo, un cultivo de células de queratinocitos humanos (HaCat) fueron expuestas a un campo electromagnético generado por un teléfono móvil para investigar la respuesta de las células de la piel al estrés oxidativo y probar el potencial del glucógeno marino como protector de los daños inducidos en la piel a consecuencia de la exposición a la REM. Estos se traducen en el aumento masivo de la producción de especies ROS debido al estrés
35 oxidativo al que se ven sometidas las células bajo REM, y al aumento de los niveles de ATP implicados en la activación del proceso de auto-destrucción celular.

35

Para el ensayo se empleó glucógeno marino purificado, que se almacenó a temperatura ambiente.

- 5 Se evaluó la acumulación de especies ROS y ATP en cinco réplicas experimentales de 10.000 células/pocillo tras su exposición a la radiación y/o tratamiento con glucógeno marino. Cada réplica se trató con el producto en un rango de entre 2,0 mg y 5,0 mg/ml (considerado como "no tóxico" y "eficaz" tras haber realizado un ensayo de MTT (Methyl Thiazol Tetrazolium) previo. El control del ensayo incluye cinco réplicas de células no
10 tratadas cultivadas en un medio de cultivo de crecimiento regular que se colocaron en pocillos dentro de la misma placa de crecimiento que las células tratadas.

- Las muestras se distribuyeron en dos placas: una se expuso a la radiación electromagnética y la otra se mantuvo en condiciones experimentales óptimas de crecimiento. Después de un
15 período de incubación de 24 h con el glucógeno marino, tanto la placa con el cultivo tratado como la placa con el control fueron sometidas al campo electromagnético generado por un teléfono móvil, que emite una radiación de entre 800 y 2.100 MHz, (como se pudo verificar en las especificaciones de SAR del producto), durante 6 horas. Durante la irradiación, las
20 células se mantuvieron en contacto con el teléfono para aumentar la intensidad de campo de radiación. La segunda placa, de control, se mantuvo físicamente aislada de la REM ya que se incubó en una cabina separada.

- Para la detección de especies ROS, los cultivos celulares, de ensayo y control, fueron irradiados durante cinco horas. A las 5 horas, las células se incubaron en un tampón de
25 detección de especies ROS durante una hora más, siguiendo bajo condiciones de irradiación. El tiempo total de irradiación, por tanto, fue de 6 horas.

Para evaluar el tiempo de respuesta, las células permanecieron en el cultivo de detección de ROS durante una hora más, esta vez, sin irradiación.

- 30 Las especies ROS intracelulares acumuladas reaccionan con un sensor fluorogénico localizado en el citoplasma celular, generando un producto colorimétrico en cantidades proporcionales a la cantidad de ROS presente. La cuantificación de la fluorescencia se mide $\lambda_{ex}=490/\lambda_{em}=525$.

- 35 Para la detección de ATP, se añadió un detergente en cada pocillo (incluido en Luminescent ATP Detection Assay kit (Abcam) para inducir la ruptura de la célula, a la vez que el ATP es

estabilizado mediante la inactivación irreversible de ATPasas durante la lisis. A continuación, el ATP fue cuantificado versus control, utilizando un kit específico y medido por un luminómetro.

5 Los resultados de los ensayos se muestran en las figuras 1, 2 y 3.

La radiación electromagnética induce la acumulación de ROS en un $34,26 \pm 3,13$ %. Tal como se observa en la figura 1, el tratamiento con glucógeno marino protege significativamente a las células de la acumulación de ROS inducida por REM hasta un $34,82 \pm 3,12\%$ y un $34,23 \pm 3,15\%$ a las concentraciones de entre 2,5 mg/ml y 5 mg/ml respectivamente.

Por su parte, se observó que la REM aumentó masivamente los niveles de ATP en las células irradiadas frente a las no irradiadas un $87,9 \pm 8,4\%$. Como se observa en la figura 2, el tratamiento con glucógeno marino redujo significativamente los efectos de la REM sobre los niveles de ATP en un $-30,6 \pm 3,4\%$, lo que indica un efecto protector del glucógeno marino.

La REM aumenta los niveles de ATP en un $46,0 \pm 4,4\%$ en comparación con las células no tratadas. Cuando las células irradiadas fueron tratadas previamente con glucógeno marino se produjo una protección significativa y se detectó la reducción de los niveles de ATP inducidos por REM en $-16,0 \pm 1,8\%$, tal como se muestra en la figura 3.

Como conclusión, los estudios realizados indican que el glucógeno marino suministrado en el medio de cultivo de células de queratinocitos humanos protege a las células del estrés oxidativo inducido por la radiación electromagnética producida por el teléfono móvil.

Los resultados indican que el glucógeno marino reduce significativamente la acumulación de ROS hasta aproximadamente un $34,82 \pm 3,12\%$ y $34,23 \pm 3,15\%$, neutralizándolas en gran medida, cuando es suministrado al medio.

El estrés exógeno que induce la EMR conduce a un estrés celular oxidativo por aumento excesivo de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Esto origina lo que se denomina “disfunción metabólica mitocondrial”, que se traduce en una pérdida masiva de ATP (adenosina trifosfato) hacia el citosol debido a la desestructuración de la mitocondria y que tiene como consecuencia la disminución del rendimiento celular.

Una radiación constante, como la recibida por los teléfonos móviles, aumenta los niveles de ATP en el citosol debido al deterioro en la estructura de las mitocondrias por el aumento masivo de especies oxidantes, desencadenando además una respuesta inflamatoria. Estas fugas de ATP representan una evidencia sistémica de la desintegración celular, y del daño mitocondrial.

Se observó que la REM provoca un gran aumento en los niveles de ATP en el citosol, de aproximadamente el $46,0 \pm 4,4\%$ y el tratamiento con glucógeno marino en un rango de entre aproximadamente 2,5 mg y 5 mg/ml protege de este daño celular reduciendo la fuga de ATP hasta en aproximadamente un $16 \pm 1,8\%$.

Estos resultados sugieren un efecto protector del glucógeno marino sobre los daños inducidos en la piel como consecuencia de la exposición a la REM y que se traducen en el aumento masivo de la producción de especies ROS debido al estrés oxidativo al que se ven sometidas las células bajo REM, y al aumento de la fuga de ATP hacia el citosol, y que son identificativos de desintegración celular y daño mitocondrial.

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Uso de glucógeno de origen marino para la fabricación de una composición tópica para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos en el rango de las microondas.
- 10 2.- Uso según la reivindicación 1, caracterizado porque las alteraciones en parámetros biológicos son la acumulación de especies de oxígeno reactivas (ROS) y/o el aumento de los niveles de ATP acumulado en el citosol celular.
- 15 3.- Uso según la reivindicación 1, caracterizado porque la cantidad de glucógeno a emplear en la composición tópica está en el rango de entre 2 mg y 5 mg de glucógeno por ml de composición.
- 20 4.- Uso según la reivindicación 3, caracterizado porque la cantidad de glucógeno a emplear en la composición tópica está en el rango de entre 2,5 y 5 mg/ml de composición.
- 5.- Uso según la reivindicación 1, caracterizado porque la frecuencia en el rango de microondas es de 900 MHz a 2 GHz.
- 25 6.- Uso según la reivindicación 1, caracterizado porque el glucógeno marino es extraído de moluscos marinos mitílidos.
- 7.- Uso según la reivindicación 6, caracterizado porque los moluscos marinos mitílidos son de la especie *Mytilus galloprovincialis*.
- 30 8.- Procedimiento para para minimizar alteraciones biológicas de la piel, en particular alteraciones en parámetros biológicos, debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos en el rango de las microondas, caracterizado porque comprende la aplicación tópica de una composición fabricada según el uso indicado en cualquiera de
- 35 las reivindicaciones 1 a 7.

Figura 1

Acumulación de ROS en las muestras tratadas con Glucógeno marino e irradiadas o no con REM.

EMR = Electro radiación magnética. * significación estadística con un 95% de confianza; ** 99% de confianza; *** 99,9% de confianza; **** 99,99% de confianza

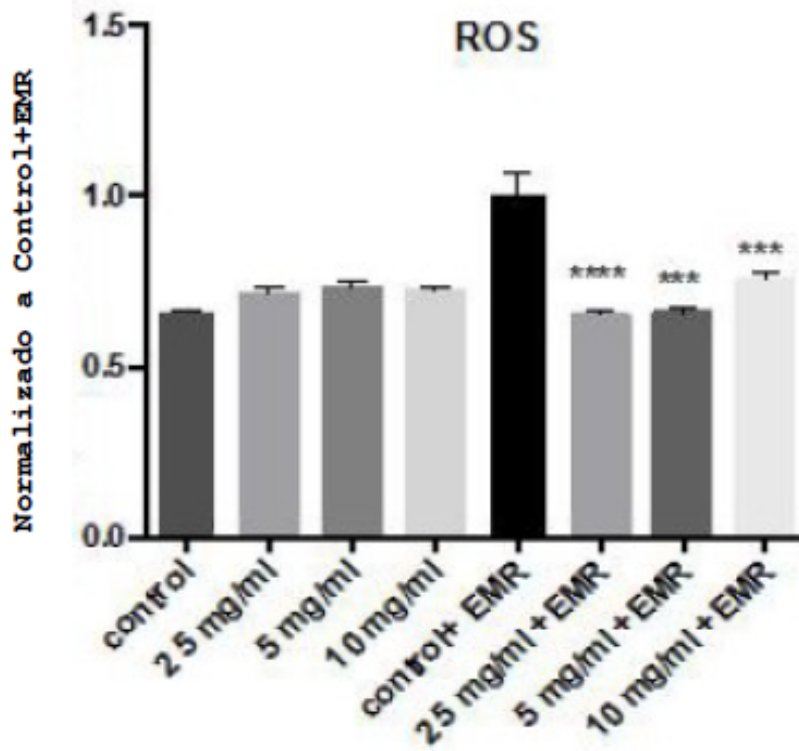


Figura 2

Gráfico de barras que representa las unidades relativas de luminiscencia en muestras normalizadas respecto al control.

EMR = Electro radiación magnética. * significación estadística

con un 95% de confianza; ** 99% de confianza;

***** 99,9% de confianza; **** 99,99% de confianza**

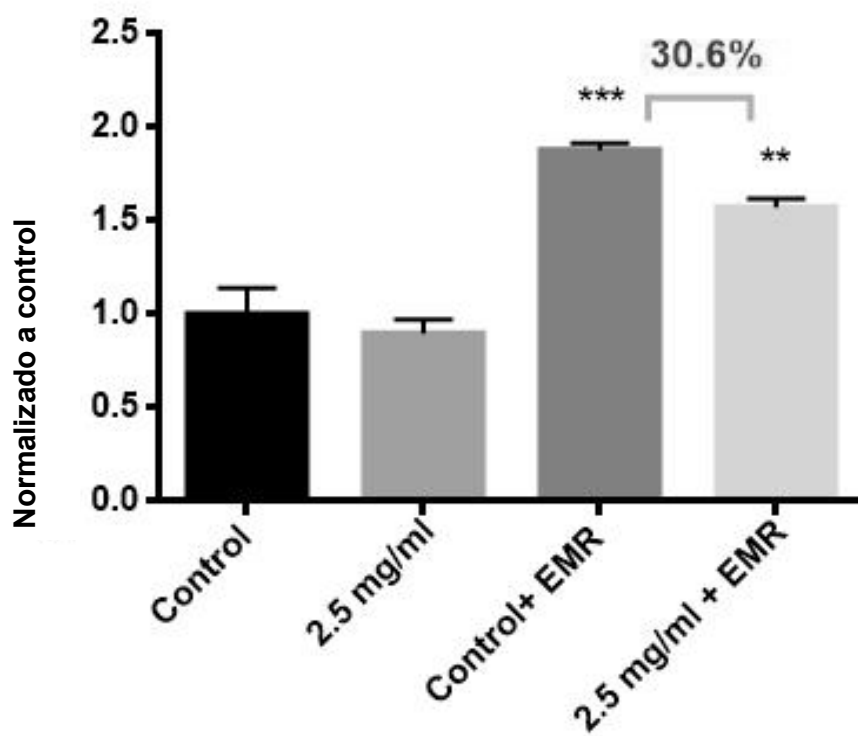


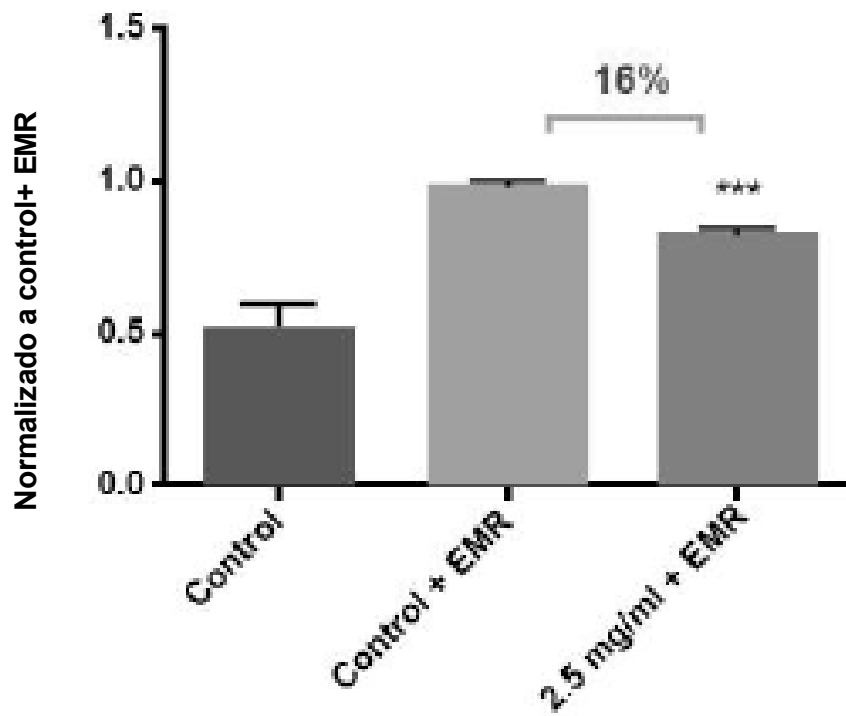
Figura 3

Gráfico de barras que representa las unidades relativas de luminiscencia en muestras normalizadas con control irradiado.

EMR = Electro radiación magnética. * significación estadística

con un 95% de confianza; ** 99% de confianza;

***** 99,9% de confianza; **** 99,99% de confianza**





OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201630326

②② Fecha de presentación de la solicitud: 18.03.2016

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K8/73** (2006.01)
A61Q19/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2469796T T3 (ACRAF) 20/06/2014, Página 3, líneas 5-10, reivindicaciones.	1-8
X	JP 2003335651 A (NOEVIR KK) 25/11/2003, (resumen)(WPI-EPOQUE) [base de datos en línea] [Recuperado el 20-12-2016] Recuperado de EPOQUE N° de acceso: 2004-039147	1-8
X	US 5093109 A (MAUSNER JACK) 03/03/1992, resumen, reivindicaciones.	1-8

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n°:

Fecha de realización del informe
20.12.2016

Examinador
J. Manso Tomico

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61Q

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, EMBASE, INTERNET

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 20.12.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 3, 4	SI
	Reivindicaciones 1, 2, 5-8	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1, 8	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2469796T T3 (ACRAF)	20.06.2014
D02	JP 2003335651 A (NOEVIR KK)	25.11.2003
D03	US 5093109 A (MAUSNER JACK)	03.03.1992

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

D01 divulga el uso de glucógeno para la aplicación cutánea, obteniéndose el glucógeno a partir de moluscos, en particular los mejillones (*Mytilus edulis* y *Mytilus galloprovincialis*).

D02 proporciona una preparación para el cuidado de la piel para uso externo que minimiza reacciones inflamatorias de la piel, o el efecto del envejecimiento de la piel. Esta preparación para uso externo del cuidado de la piel comprende glucógeno y uno o más tipos de agentes antiinflamatorios. El glucógeno es extraído de *Mytilus coruscus*.

D03 divulga una composición conteniendo glucógeno para ser usada sobre la piel con el fin de minimizar los efectos del envejecimiento, producidos por la liberación de radicales libres, o retardar los efectos sobre la piel debidos a la radicación solar.

Dado que los documentos D01, D03 divulgan composiciones conteniendo glucógeno de origen marino, que se usan de manera tópica sobre la piel para minimizar las alteraciones biológicas de la misma, las reivindicaciones independientes 1, 8, y las dependientes 6, 7, carecerían de novedad, tal y como se menciona en el art. 6 de la ley 11/1986. El hecho de que esas alteraciones biológicas sean debidas a radiaciones electromagnéticas emitidas por dispositivos electrónicos en el rango de microondas no conferiría novedad al uso tópico alegado. Tampoco conferiría novedad alguna el hecho de que las alteraciones de la piel se deban a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), o al aumento de ATP, o el tipo y la frecuencia de la radiación electromagnética empleada, por lo que las reivindicaciones dependientes 2 y 5 también carecerían de novedad, tal y como se menciona en el art. 6 de la ley 11/1986.

A la luz de los documentos del estado de la técnica, ninguna de las reivindicaciones 1, 2, 5-8 cumplirían con el requisito de actividad inventiva, al poder resultar del estado de la técnica de manera evidente para el experto en la materia, tal y como se menciona en el art. 8 de la ley 11/1986.

Las reivindicaciones 3 y 4, que hacen referencia a la cantidad de glucógeno empleado, no parecen traer consigo efecto técnico alguno que pudiera suponer una contribución al estado de la técnica sobre lo ya divulgado, por lo que el uso de una composición tópica con las cantidades que aparecen en esas reivindicaciones no supondría más que una forma alternativa de usar el glucógeno de origen marino sobre la piel para minimizar alteraciones biológicas en la misma. Así pues, las reivindicaciones 3, 4 carecerían de actividad inventiva tal y como se menciona en el art.8 de la ley 11/1986.