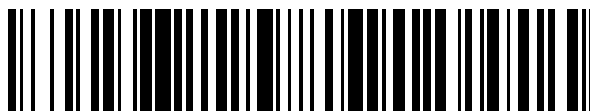


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 786 041**

51 Int. Cl.:

<b>A61F 2/10</b>	(2006.01) <b>A61K 38/17</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/60</b>	(2006.01) <b>A61P 17/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/64</b>	(2006.01) <b>G01N 33/68</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/68</b>	(2006.01)	
<b>A61K 8/99</b>	(2007.01)	
<b>A61L 27/60</b>	(2006.01)	
<b>A61Q 7/00</b>	(2006.01)	
<b>A61Q 15/00</b>	(2006.01)	
<b>A61Q 19/08</b>	(2006.01)	
<b>A61Q 19/00</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2010 PCT/IB2010/053247**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.01.2011 WO11007337**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2010 E 10742281 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 2453838**

54 Título: **Uso cosmético de polipéptidos de tipo lacritina**

30 Prioridad:

**16.07.2009 FR 0954929**  
**10.08.2009 US 272030 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**08.10.2020**

73 Titular/es:

**L'ORÉAL (100.0%)**  
**14, rue Royale**  
**75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**DELATTRE, CAROLINE;**  
**BERNARD, DOMINIQUE y**  
**DONOVAN, MARK**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

ES 2 786 041 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso cosmético de polipéptidos de tipo lacritina

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere al campo de los marcadores de proteínas para la piel y los apéndices de la misma y al uso de dichos marcadores como dianas o como agentes activos terapéuticos o cosméticos para la prevención y/o tratamiento de trastornos.
- 10 **[0002]** Se describe el uso, en particular el uso cosmético o terapéutico, de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido de tipo lacritina, de un análogo del mismo o de un fragmento del mismo, de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica este polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de este polipéptido, o de la interacción del mismo con sindecano-1, como un agente útil para el cuidado de la piel y de apéndices de la misma.
- 15 **[0003]** La invención se refiere al uso de al menos un polipéptido de tipo lacritina, de un análogo del mismo o de un fragmento del mismo, o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica este polipéptido, como una herramienta para la caracterización *in vitro* o *ex vivo* de una condición de la piel.
- 20 **[0004]** La epidermis, que es la parte superficial de la piel, es un tejido al cual las células están unidas y entrelazadas entre sí y se encuentran en una membrana basal. Forma un revestimiento externo que comprende glándulas sudoríparas o sebáceas. Más específicamente, la epidermis es una estructura de la cual la homeostasis resulta de la implementación de una colección finamente regulada de señales intracelulares y extracelulares actuando en todos los pasos de la proliferación, migración y diferenciación celular, y también los pasos de síntesis de los varios componentes de la matriz extracelular. Estas señales en particular pueden resultar de la acción de factores producidos por queratinocitos.
- 25 **[0005]** La epidermis se divide de forma convencional en una capa basal de queratinocitos que contiene, en particular, células madre cutáneas y que constituyen la capa germinativa de la epidermis, una capa "espinosa" constituida por varias capas de células poliédricas colocadas en la capa basal, una capa "granular" que comprende de una a tres capas que se dice que son de células aplanadas que contienen inclusiones citoplásmicas distintas, gránulos de queratohialina y, finalmente, un conjunto de capas superiores, llamada capa córnea, o *stratum corneum*, constituido por queratinocitos en la fase terminal de su diferenciación, llamados corneocitos.
- 30 **[0006]** El *stratum corneum*, que es la parte más exterior de la piel y que lleva a cabo la función de una barrera entre el organismo y el entorno, y el tallo capilar, que es la parte que emerge del folículo piloso que constituye la cabeza de pelo, ambos representan el resultado del proceso de diferenciación de queratinocitos. La diferenciación epidérmica sigue un proceso de maduración donde los queratinocitos de la capa basal se diferencian y migran para dar como resultado la formación de corneocitos, que son células muertas completamente queratinizadas. Esta diferenciación es el resultado de fenómenos perfectamente coordinados que darán como resultado que el grosor de la epidermis se mantenga constante y así asegurar la homeostasis de la epidermis.
- 35 **[0007]** Muchos trastornos cutáneos o condiciones de piel patológicas pueden resultar de una disfunción de la homeostasis epidérmica, y en particular de la proliferación y/o renovación de las células terminales de la piel y/o del folículo piloso, y en particular de los queratinocitos.
- 40 **[0008]** En este momento se sabe que estas disfunciones pueden en particular estar asociadas con una modulación diferente de la expresión y/o de la actividad biológica de determinadas proteínas expresadas en el *stratum corneum*.
- 45 **[0009]** Sorprendentemente, los inventores han observado, por primera vez, la expresión de lacritina, y en particular de tres péptidos derivados de lacritina, representados por las secuencias SEQ ID NO: 7, SEQ ID N.º: 8, y SEQ ID N.º: 9, en el nivel de la piel, y en particular una reducción de su expresión, y en particular en la expresión de los tres péptidos anteriormente mencionados, en la piel envejecida y/o seca. Por lo tanto, contra todas las expectativas, la lacritina demuestra ser un marcador para la
- 55

condición fisiológica de la piel, en particular desde el punto de vista del envejecimiento y/o sequedad de la piel.

5 **[0010]** Además, se ha observado también que el proteoglicano sindecano-1 y también la heparanasa 1, tal como se describe más adelante, los cuales están implicados en la actividad biológica de la lacritina descrita en los ojos, se expresan fuertemente en la epidermis y el folículo piloso.

10 **[0011]** También ha sido observado por los inventores que la administración de un agente activo compuesto por un lisado de bacterias probióticas, en particular de la especie *Bifidobacterium longum*, y de un derivado de salicilato de fitosfingosina ventajosamente hace posible restaurar la expresión de lacritina en la piel envejecida y/o seca.

15 **[0012]** En consecuencia, según uno de sus primeros aspectos, el objeto de la presente invención es un uso cosmético, o incluso no terapéutico, de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, un análogo del mismo o un fragmento del mismo, de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica este polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de este polipéptido, o su interacción con el sindecano-1, como un agente útil para el cuidado de la piel y de apéndices de los mismos.

20 **[0013]** La lacritina es una glicoproteína que comprende, en su forma de preproteína, 138 aminoácidos y que tiene un peso molecular de aproximadamente 14,2 kDa para el polipéptido no glicosilado.

25 **[0014]** La lacritina es conocida por expresarse en los gránulos secretores de las células acinares de las glándulas lacrimales y salivares. Las propiedades de la lacritina han sido ampliamente descritas en términos del ojo y las células epiteliales de la córnea, y se han propuesto en varios tratamientos oftálmicos, por ejemplo en los documentos de patente US2004/081984, WO 2005/119899, WO 2008/105454, US 2007/0167372, US 7,207,522 y EP 1 766 768.

30 **[0015]** La lacritina tiene una actividad de mitógeno en las células epiteliales de la córnea, y también se ha caracterizado por fomentar la secreción de lágrimas. Una reducción en la expresión de lacritina se ha observado en pacientes que sufren de blefaritis, una inflamación del revestimiento cutáneo de los párpados, o, en casos determinados, denominado "ojos secos" (Sanghi et al., *J. Mol. Biol.*, 2001, 310(29):127-139 ; Nakajima et al., *Exp. Eye Res.*, 2007, 85(15):652-658 ; McKnown et al., *Exp. Eye Res.*, 2008: 1-11).

35 **[0016]** A nivel oftálmico, este polipéptido tiene también una actividad antimicrobiana (WO 2008/033477 o WO 2006/129867) y promueve secreciones lipídicas (WO 2007/058383).

40 **[0017]** La actividad de la lacritina parece requerir en particular la asociación de su extremo C-terminal con la parte N-terminal del proteoglicano sindecano-1 (SDC1) deglicosilado previamente con heparanasa-1, una enzima destinada a degradar sulfato de heparano.

45 **[0018]** El término "piel" se refiere también al cuero cabelludo. Con respecto a la piel, el término "apéndices" se entiende más particularmente como que denota las uñas, vello corporal o el pelo.

**[0019]** El término "cuidado de la piel y de los apéndices de la misma" pretende significar más particularmente la estimulación de la proliferación y/o renovación de las células terminales de la piel y/o el folículo piloso, e incluso más particularmente prevenir y/o tratar un trastorno cutáneo y/o capilar.

50 **[0020]** Se describen métodos para prevenir y/o tratar las señales cutáneas del envejecimiento, en particular para prevenir y/o tratar el adelgazamiento de una epidermis y/o la pérdida de firmeza, de elasticidad, de densidad y/o de tonicidad de una epidermis y/o la formación de arrugas y líneas de expresión, para prevenir y/o tratar las señales cutáneas de sequedad, en particular previniendo y/o tratando la deshidratación de la piel, para prevenir y/o tratar trastornos de piel debido a un desequilibrio  
55 en las propiedades de barrera de la piel, en particular para estimular las defensas antimicrobianas cutáneas, y en particular para el tratamiento y/o prevención de acné y/o de caspa, para regular las secreciones de sudor y/o sebáceas de la piel, en particular para prevenir y/o tratar los trastornos de la

piel asociados, respectivamente, con la hiperhidrosis o la hipohidrosis, o bien con la hiperseborrea o la hiposeborrea, y para estimular el crecimiento del vello corporal y del pelo.

5 **[0021]** El término "regular" pretende significar, con respecto a un efecto dado, la acción de estimular o inhibir este efecto para conferir una intensidad fisiológica sobre el mismo.

**[0022]** El término "uso cosmético" pretende significar un uso destinado, principalmente, a proporcionar un efecto estético y/o de comodidad.

10 **[0023]** Se describe también el uso de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido de secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, un análogo del mismo o un fragmento del mismo, de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica este polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de este polipéptido, o su interacción con el sindecano-1, para la preparación de una composición terapéutica para el cuidado de la piel y de los  
15 apéndices de la misma.

**[0024]** El término "composición terapéutica" pretende significar una composición destinada a proporcionar un efecto profiláctico o curativo con respecto a trastornos epidérmicos, conocido por reflejar una condición patológica.

20 **[0025]** La expresión "cantidad eficaz" pretende significar la cantidad mínima requerida para la observación del efecto esperado, es decir un efecto cosmético o un efecto terapéutico, entendiéndose que las cantidades eficaces requeridas para obtener un efecto cosmético o un efecto terapéutico, pueden, según corresponda, ser idénticas o diferentes.

25 **[0026]** El término "prevención" o "profilaxis" pretende significar la supresión total o parcial de un riesgo de incidencia de un evento o un fenómeno. Cuando la supresión es parcial, el riesgo de incidencia del evento o fenómeno determinado es reducido en comparación con dicho riesgo antes de la implementación de la presente invención.

30 **[0027]** Se describe también el uso de al menos un polipéptido o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, como una herramienta para la detección de compuestos biológicos o químicos o para tratamientos físicos capaces de modular la actividad biológica, la estabilidad y/o la expresión de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, o la interacción de dicho polipéptido con el sindecano-1.

**[0028]** Los compuestos biológicos o químicos seleccionados o los tratamientos físicos se pueden usar ventajosamente para cuidar para la piel y sus apéndices.

40 **[0029]** Se describe un método para detectar compuestos biológicos o químicos o para tratamientos físicos capaces de modular la expresión de un polipéptido según la invención, o de una secuencia de ácidos nucleicos que codifican dicho polipéptido, comprendiendo al menos los pasos que consisten en:

45 a) poner al menos una célula aislada capaz de expresar dicho polipéptido o dicha secuencia de ácidos nucleicos en contacto con al menos un compuesto químico o biológico que se ha de evaluar, o exponer dicha célula aislada al tratamiento físico que se ha de evaluar, en condiciones adecuadas para la expresión de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos,

b) realizar una medición cualitativa o cuantitativa de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, y

50 c) comparar dicha medición con una medición de referencia.

**[0030]** Los compuestos biológicos o químicos seleccionados o los tratamientos físicos se pueden usar ventajosamente para cuidar para la piel y sus apéndices.

55 **[0031]** Una "medición de referencia", con respecto a un parámetro dado, es una medición cualitativa o cuantitativa de este parámetro realizada bajo condiciones controladas, es decir en ausencia del factor del cual se evalúa el efecto en el parámetro.

- 5 [0032] Por ejemplo, para un método de detección de un compuesto químico o biológico o para un tratamiento físico, una "medición de referencia" se puede obtener al realizar una medición del polipéptido, o de la secuencia de ácidos nucleicos que codifica del polipéptido, que es cualitativa, es decir una ausencia o una presencia de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, o que es cuantitativa, es decir un contenido del polipéptido o de la secuencia de ácidos nucleicos, en ausencia del compuesto o del tratamiento físico evaluado.
- 10 [0033] En el caso de un método para caracterizar una condición de la piel, como se detalla más adelante, una "medición de referencia" se puede obtener al realizar una medición cualitativa o cuantitativa del polipéptido, o de la secuencia de ácidos nucleicos que codifica del polipéptido, en una muestra de piel que es diferente de la que es el objeto de la caracterización, y que puede describirse como piel normal con respecto a la piel evaluada, es decir que sea satisfactoria desde el punto de vista fisiológico, como, por ejemplo, piel joven desprovista de señales de sequedad de la piel.
- 15 [0034] Preferiblemente, una medición de referencia es una medición estadística, es decir una medición que se ha repetido en varias muestras para obtener una media.
- 20 [0035] La medición de referencia se puede llevar a cabo en paralelo o secuencialmente a la medición de prueba, que es, por ejemplo, la medición definida en el paso b) del método descrito anteriormente. También puede ser una medición "histórica", es decir una medición realizada antes de la medición de prueba, y almacenada, por ejemplo en una base de datos, con el propósito de un uso posterior.
- 25 [0036] La comparación de la medición de prueba con la medición de referencia, y la observación de una desviación o de una falta de desviación entre las dos mediciones, hace posible extraer información con respecto al efecto del factor evaluado, por ejemplo el efecto de un compuesto químico o biológico o de un tratamiento físico en la expresión de lacritina, o con respecto a la naturaleza envejecida o seca de la piel.
- 30 [0037] Se describe también un método para seleccionar compuestos biológicos o químicos capaces de modular la actividad biológica de un polipéptido conforme a la invención, que comprende al menos los pasos que consisten en:
- 35 a) poner al menos un polipéptido aislado conforme a la invención en contacto con al menos un compuesto químico o biológico que se ha de evaluar, bajo condiciones adecuadas para la manifestación de la actividad biológica de dicho polipéptido,  
 b) realizar una medición cualitativa o cuantitativa de dicha actividad biológica, y  
 c) comparar dicha medición con una medición de referencia.
- 40 [0038] Los compuestos biológicos o químicos seleccionados se pueden usar ventajosamente para cuidar para la piel y sus apéndices.
- 45 [0039] La presente invención está definida por las reivindicaciones y se refiere al uso de al menos un polipéptido conforme a las reivindicaciones o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, como una herramienta para la caracterización *in vitro* o *ex vivo* de una condición de la piel.
- [0040] Más específicamente, la presente invención se refiere a un método para caracterizar una condición de la piel, que comprende al menos los pasos que consisten en:
- 50 a) realizar, en una muestra aislada de dicha piel, una medición cualitativa o cuantitativa de un polipéptido conforme a las reivindicaciones o de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido  
 b) comparar dicha medición realizada en el paso a) con una medición de referencia.
- 55 [0041] Como se desprende de la descripción que sigue, los métodos según la invención son particularmente ventajosos en la medida en que su implementación no requiere un procedimiento invasivo. Los métodos de la invención se pueden llevar a cabo *in vitro* o *ex vivo*.

[0042] Esto es porque la localización, por los inventores, del nuevo biomarcador para piel envejecida y/o para piel seca representado por la lacritina, en el *stratum corneum*, hace posible caracterizar de forma cuantitativa o cualitativa la expresión de esta proteína mediante muestreo tópico simple. El método de muestreo puede ser, por ejemplo, una técnica de eliminación que consiste aplicar una porción de cinta adhesiva a la epidermis en consideración. Cuando se separa esta cinta adhesiva, se toma una muestra de una fracción de la superficie de la piel. Después de la extracción de proteínas, se analiza después mediante métodos convencionales, tal como un inmunoensayo enzimático ELISA o análisis por Western blot, o más particularmente por medio del método proteómico diferencial iTRAQ tal y como se define más adelante.

[0043] También se describe el uso de al menos un polipéptido conforme a la invención, o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, para caracterizar la eficacia de un tratamiento cosmético para el cuidado de la piel y de apéndices de la misma, en particular para caracterizar la eficacia de un tratamiento para un trastorno de la piel tal como se ha definido anteriormente.

[0044] También se describe el uso de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido conforme a la invención o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, o la interacción de dicho polipéptido con sindecano-1, para preparar y/o mejorar un modelo de células epiteliales pluriestratificadas, en particular un modelo de piel reconstruido.

#### CONDICIONES DE LA PIEL

[0045] Las condiciones de la piel o de la epidermis son una cuestión de epidermis que muestran señales que resultan de trastornos de la proliferación y/o renovación de las células terminales de la piel y/o del folículo piloso.

[0046] Estas condiciones de la piel pueden ser una cuestión de un uso cosmético y/o terapéutico, y en particular para un método de prevención y/o tratamiento cosmético y/o terapéutico.

[0047] Más particularmente, las condiciones de la piel a la que se refiere la invención se describen más adelante.

#### Señales cutáneas de envejecimiento

[0048] El término "señales cutáneas de envejecimiento" pretende significar cualquier modificación de la apariencia externa de la piel debido al envejecimiento, ya sea cronobiológico y/o fotoinducido, por ejemplo arrugas y líneas de expresión, piel marchita, falta de elasticidad y/o de tonicidad de la piel, adelgazamiento de la dermis y/o degradación de las fibras de colágeno, conduciendo así a la apariencia de una piel flácida y arrugada. El término también pretende significar todas las modificaciones internas de la piel que no dan como resultado sistemáticamente una apariencia externa modificada, por ejemplo todas las degradaciones internas de la piel, en particular de las fibras de elastina, o fibras elásticas, después de la exposición a radiación ultravioleta.

[0049] En particular, las señales cutáneas del envejecimiento hacia las que se dirige la invención afectan a todas las modificaciones de la apariencia externa de la piel debido al envejecimiento, ya sea cronológico y/o fotoinducido, por ejemplo el adelgazamiento de una epidermis y/o una pérdida de firmeza, de elasticidad, de densidad y/o de tonicidad de una epidermis y/o la formación de arrugas y líneas de expresión.

#### Señales cutáneas de sequedad

[0050] El término "señales cutáneas de sequedad" pretende significar todas las modificaciones de la apariencia externa de la piel debido a la deshidratación de la epidermis.

[0051] La piel seca parece áspera al tacto y parece cubierta de escamas y se manifiesta principalmente a través de un sentimiento de tirantez y/o de tensión.

[0052] El origen de la sequedad de la piel puede ser de tipo constitucional o adquirido.

[0053] En el caso de piel seca constitucional, se pueden distinguir dos categorías: piel patológica y piel no patológica.

5

[0054] La piel seca constitucional patológica está representada esencialmente por la dermatitis atópica y la ictiosis. Es prácticamente independiente de las condiciones externas, y surge de modificaciones genéticas conocidas o desconocidas.

10

[0055] En el caso de la piel seca constitucional no patológica, la gravedad de la condición de sequedad puede, por su parte, depender de factores externos. La piel senil, caracterizada en particular por una reducción general del metabolismo cutáneo con la edad, la piel frágil, que se puede caracterizar por una piel que es muy sensible a los factores externos y a menudo acompañada de eritemas y rosácea, y xerosis vulgaris, de origen genético probable y principalmente manifestado en la cara, las extremidades y el dorso de las manos, se incluyen en esta categoría cutánea.

15

[0056] Sin tener en cuenta el origen, la piel que sufre de sequedad cutánea presenta generalmente las señales siguientes, a saber una sensación áspera y escamosa, y también una disminución de la flexibilidad y la elasticidad.

20

[0057] La piel seca, también conocida como "xerosis", puede aparecer a cualquier edad, y puede no estar conectada a ninguna condición patológica. En este caso se denominará sequedad "adquirida".

[0058] Aunque ningún estudio ha demostrado que la sequedad tenga un efecto en el origen y la formación de arrugas y líneas de expresión, que son esencialmente atribuibles al envejecimiento, en términos visuales, una piel seca hace que las arrugas y líneas de expresión sean más evidentes.

25

[0059] Además, desde un punto de vista sensorial, la sequedad de la piel se caracteriza por un sentimiento de la tirantez y/o picor. Por razones obvias, estas manifestaciones no son solo una fuente de molestia, o incluso de dolor, sino que también son inestéticas.

30

#### Trastornos de la barrera cutánea

[0060] La función de barrera está proporcionada principalmente por la capa superior de la epidermis, es decir la capa córnea, también conocida como el *stratum corneum*, Constituye una barrera contra los ataques externos, en particular ataques químicos, mecánicos o infecciosos, y, a este respecto, un cierto número de reacciones de defensa contra los factores ambientales, tal como, por ejemplo, el clima, los rayos ultravioleta, o el tabaco y/o xenobióticos, por ejemplo microorganismos, se producen en la misma.

35

[0061] Un deterioro de la barrera cutánea puede ocurrir en presencia de ataques externos tales como irritantes, por ejemplo detergentes, ácidos, bases, oxidantes, agentes de reducción, disolventes concentrados, gases o humos tóxicos, tensiones mecánicas, por ejemplo roces, impactos, abrasión, desgarrado de la superficie, proyección de polvo o partículas, afeitado o depilación, desequilibrios térmicos o climáticos, por ejemplo frío, sequedad, radiación o xenobióticos, en particular microorganismos o alérgenos indeseables, o de ataques internos tales como el estrés psicológico.

40

45

[0062] Los trastornos de la barrera cutánea pueden provocar en particular molestias en la piel, fenómenos sensoriales y en particular fenómenos desagradables, en particular hormigueo, tirantez, calor y picor.

50

#### Trastornos del cuero cabelludo

[0063] Las condiciones de caspa son condiciones crónicas, frecuentes, recurrentes que son socialmente incapacitantes debido a su evidente naturaleza poco atractiva. Muchos factores pueden amplificar estos fenómenos y dan como resultado la aparición de trastornos adicionales, tales como condiciones inflamatorias del cuero cabelludo que generan sensaciones de picazón o prurito, dando como resultado un comportamiento de rascado que amplifica el fenómeno de aparición de caspa. Las condiciones de caspa del cuero cabelludo pueden ser de tipo graso o de tipo seco.

55

**[0064]** Las condiciones de caspa seca del cuero cabelludo son más comunes y se amplifican durante los trastornos de hidratación de la piel, y en particular durante la sequedad considerable de la epidermis del cuero cabelludo. Las condiciones de caspa seca reflejan la xerosis del cuero cabelludo, cuando corresponde asociado a una renovación excesivamente rápida del *stratum corneum* del mismo. La caspa seca tiene generalmente forma de pequeñas piezas blancas o grises y se distribuye sobre el

5

**[0065]** Además, la secreción excesiva de sebo promueve la aparición de una condición de caspa oleaginosa del cuero cabelludo, o caspa grasa. Tiene tendencia a ser más fácilmente pruriginosa. La caspa grasa es una de las formas de la dermatitis seborreica. Los individuos que la padecen tienen un cuero cabelludo eritematoso cubierto de grandes escamas amarillas oleaginosas que se acumulan para formar paquetes. Tienen un cuero cabelludo pruriginoso, y a menudo tienen sensaciones de ardor en las áreas afectadas.

10

**[0066]** Además, un cuero cabelludo que exhibe una sequedad excesiva o una secreción excesiva de sebo puede mostrar prurito y/o una inflamación de la epidermis.

15

#### Trastornos capilares

**[0067]** El crecimiento del cabello y la renovación capilar se determinan principalmente por la actividad de los folículos pilosos y de su matriz circundante. Su actividad es cíclica y comprende esencialmente 3 fases, es decir la fase de anágeno, la fase de catágeno y la fase de telógeno. Después de la fase terminal o telógena, que dura unos pocos meses, el pelo se cae y empieza de nuevo otro ciclo. Por lo tanto, la cabeza del pelo está en constante renovación y, de los aproximadamente 150 000 pelos que conforman una cabeza de pelo, en cada momento, aproximadamente el 10 % está en reposo y será sustituido dentro de unos pocos meses. La pérdida o caída natural del pelo puede estimarse, de media, como siendo de unos pocos cientos de pelos al día para una condición fisiológica normal. Este proceso de renovación física constante sufre un cambio natural durante el envejecimiento; el pelo se vuelve más fino y sus ciclos más cortos.

20

25

30

**[0068]** Por otro lado, en determinados tipos de dermatosis del cuero cabelludo con una naturaleza inflamatoria, tales como, por ejemplo, psoriasis o dermatitis seborreica, la pérdida del cabello se puede acentuar en gran medida y los ciclos de renovación de folículo pueden verse enormemente interrumpidos. Además, varias causas pueden conducir a una pérdida sustancial, temporal o permanente de cabello. Estas pueden ser pérdida y alteración perjudicial del pelo durante un embarazo (después del parto), durante estados de desnutrición o desequilibrio dietético, o incluso durante estados de astenia o de disfunción hormonal, como pueden ser el caso durante o en la etapa final de la menopausia. También puede ser un caso de pérdida o alteración perjudicial del cabello relacionada con fenómenos estacionales. También puede ser una cuestión de alopecia, que se debe esencialmente a trastornos en la renovación del cabello que conducen, en una primera fase, a la aceleración de la frecuencia de los ciclos en detrimento de la calidad del pelo, y luego de la cantidad. El término "alopecia" abarca también una familia entera de afecciones del folículo piloso cuya consecuencia final es la pérdida permanente, parcial o general del pelo. Esto implica más particularmente la alopecia androgénica. En un gran número de casos, la pérdida prematura del cabello ocurre en individuos genéticamente predispuestos; esto es por tanto alopecia androcronogenética; esta forma de alopecia afecta especialmente a hombres.

35

40

45

#### Trastornos de curación

**[0069]** Una curación correcta implica la cooperación entre los fibroblastos dérmicos y los queratinocitos epidérmicos por medio de citocinas que promueven la proliferación celular y la migración y la síntesis de los componentes de la matriz extracelular, haciendo posible, en una primera fase, llenar la cicatriz y luego, en una segunda fase, desarrollar una función de barrera epidérmica renovada mediante la regulación fina de la diferenciación de los queratinocitos.

50

55

**[0070]** La lacritina puede actuar positivamente en estas varias etapas.



Trastornos secretores, en particular de tipo sudoríparo y sebáceo

5 **[0071]** Las secreciones contribuyen en gran medida al estado de hidratación de la piel a través de su provisión, en la superficie de epidermis, de elementos hidratantes tales como, por ejemplo, urea, lactatos, sales, o compuestos lipofílicos que oponen a la pérdida de agua. Este estado hidratado es deseable, por ejemplo para combatir la sequedad de la piel, o es una fuente de desarrollos microbianos no deseados responsables de olores desagradables, en particular olores en las axilas, y/o de trastornos de descamación y de la función de barrera, en particular en el cuero cabelludo. Estas secreciones y los elementos constituyentes de las mismas también son responsables en gran medida de la aparición de una película hidrolipídica superficial y la modulación de tales secreciones puede ser deseable, por ejemplo, para combatir la aparición de piel grasa.

**[0072]** La lacritina puede regular ventajosamente estas secreciones.

15 Trastornos de defensa antimicrobiana

20 **[0073]** Las capas superficiales de la epidermis constituyen una barrera contra la penetración de microorganismos. Esta barrera no es solo física, sino también bioquímica, y en particular por medio de moléculas antimicrobianas tales como péptidos antimicrobianos. En determinados trastornos de la piel tales como la dermatitis atópica, el acné o la rosácea, se ha implicado un desequilibrio en estas defensas. La lacritina, en virtud de sus propiedades antimicrobianas específicas y/o su capacidad para regular la síntesis de moléculas con propiedades antimicrobianas, pueden corregir ventajosamente estos trastornos.

25 **[0074]** Según una forma de realización, un uso cosmético se centra más particularmente en la prevención y/o tratamiento de una condición de la piel elegida de entre las señales cutáneas de envejecimiento, en particular el adelgazamiento de una epidermis y/o la pérdida de firmeza, de elasticidad, de densidad y/o de tonicidad de una epidermis y/o la formación de arrugas y líneas de expresión, las señales cutáneas de sequedad, en particular la deshidratación de la piel, trastornos de la piel debido a un desequilibrio en las propiedades de barrera de la piel, en particular en las defensas antimicrobianas de la piel, y especialmente el acné y/o la caspa, los trastornos de sudoración o de secreción sebácea, en particular los trastornos de la piel asociados, respectivamente, con la hiperhidrosis o la hipohidrosis, y con la hiperseborrea o la hiposeborrea, y los trastornos del crecimiento del vello corporal y del pelo.

35 **[0075]** En particular, un uso cosmético se centra más particularmente en la prevención y/o el tratamiento de una condición de la piel elegida de entre xerosis, paraqueratosis, hiperqueratosis, piel grasa, olor cutáneo, una desregulación de la sudoración o de la sebogénesis, alopecia, hirsutismo, acné o caspa seca o grasa.

40 **[0076]** Según una forma de realización, un uso terapéutico o dermatológico se centra más particularmente en la prevención y/o tratamiento de una condición de la piel elegida de entre ictiosis, rosácea, liquen, dermatitis seborreica, queratodermia palmoplantar, un trastorno de curación o un trastorno de la piel que implica fenómenos secreción y un proceso de invasión celular, en particular en el contexto de neoplasias malignas o benignas, psoriasis, acopia cutánea, dermatitis atópica, o alopecia o *alopecia areata*.

POLIPÉPTIDO

50 **[0077]** Según una forma de realización, un polipéptido adecuado para la invención es un polipéptido de secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.

55 **[0078]** Para el propósito de la presente invención, el término "lacritina" pretende significar, en general, a menos que se indique lo contrario, la secuencia SEQ ID N.º: 4, que opcionalmente ha sufrido modificaciones postraduccionales de tipo glicosilación en el residuo de asparagina en la posición 119, que son opcionalmente capaces de modificar su peso molecular aparente o su punto isoeléctrico, y las variantes resultantes de un empalme alternativo.

**[0079]** El término "análogo de un polipéptido" pretende significar cualquier polipéptido que exhibe una identidad de secuencia, en particular con respecto a una de las secuencias características de dicho polipéptido, y también una actividad biológica de la misma naturaleza.

5 **[0080]** El término "secuencia característica del polipéptido" se destina a dirigirse hacia, en particular con respecto a lacritina, la secuencia representada por la SEQ ID N.º: 4.

**[0081]** Este análogo puede ser un agente peptidomimético.

10 **[0082]** La identidad de secuencia es al menos el 85 %, por ejemplo al menos el 90 %, y por ejemplo al menos el 95 %. La identidad de secuencia se puede determinar mediante comparación visual o por medio de una herramienta informática ampliamente usada en el campo, tal como los programas BLAST disponibles en [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) y usados con los parámetros por defecto.

15 **[0083]** Un análogo de un polipéptido de la invención puede resultar de modificaciones derivadas de la mutación o variación en las secuencias de los péptidos según la invención, que se originan ya sea por la delección o por la inserción de uno o más aminoácidos, o por la sustitución de uno o más aminoácidos en las secuencias características de un polipéptido según la invención. Varias de estas modificaciones se pueden combinar.

20

**[0084]** Ventajosamente, un análogo de un polipéptido de la invención puede comprender sustituciones conservadoras con respecto a la secuencia de aminoácidos del polipéptido natural.

25 **[0085]** A modo de ejemplo de mutaciones que se pueden considerar en la presente invención, se puede hacer mención, no exhaustiva, de la sustitución de uno o más residuos de aminoácidos con residuos de aminoácidos que tienen un índice hidropático similar, sin afectar sin embargo sustancialmente las propiedades biológicas del polipéptido. El índice hidropático es un índice asignado a los aminoácidos en función de su hidrofobicidad y de su carga (Kyte et al. (1982), *J. Mol. Biol.*, 157: 105).

30 **[0086]** Un polipéptido o análogo que esté cubierto también por la presente invención puede ser un polipéptido que haya sufrido una o más modificación(es) postraducciona(l)es).

35 **[0087]** El término "modificación(es) postraducciona(l)es" se destina a abarcar todas las modificaciones que un péptido o una proteína es capaz de experimentar al final de su síntesis en una célula, tal como, por ejemplo, una o más fosforilación(es), una o más tiolación(es), una o más acetilación(es), una o más glicosilación(es), una o más lipidación(es), tales como una farnesilación o una palmitoilación, un reordenamiento estructural del tipo que implica la formación de enlaces disulfuros y/o la escisión en la secuencia peptídica.

40 **[0088]** El análogo tiene, además, sustancialmente la misma actividad biológica que el polipéptido natural.

45 **[0089]** Además, se sabe que la secuencia primaria de un polipéptido, es decir la sucesión de los aminoácidos, determina sitios específicamente reconocidos por enzimas de tipo proteasa, tales como tripsina, que, una vez que el reconocimiento de estos sitios se ha vuelto eficaz, inducirán la escisión del polipéptido por proteólisis. Esta proteólisis da como resultado la generación de varios péptidos, o fragmentos proteolíticos, de lacritina.

50 **[0090]** En consecuencia, la invención se extiende también a los fragmentos de lacritina que se derivan, cuando proceda, de su proteólisis.

55 **[0091]** Para el propósito de la invención, el término "fragmento de polipéptido" pretende significar cualquier porción de un polipéptido conforme a la invención que comprende al menos 8, o incluso al menos 10, y más particularmente al menos 12 aminoácidos consecutivos de dicho polipéptido, y una actividad biológica sustancialmente similar.

**[0092]** Como se detalla en los ejemplos, los inventores han detectado la presencia de fragmentos peptídicos de lacritina en el *stratum corneum* humano.

**[0093]** Así, según una forma de realización, un polipéptido adecuado para la invención puede ser un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 5, la SEQ ID N.º: 6, la SEQ ID N.º: 7, la SEQ ID N.º: 8, la SEQ ID N.º: 9, o la SEQ ID N.º: 10, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.

5

**[0094]** Preferiblemente, un polipéptido adecuado para la invención puede ser un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 7, la SEQ ID N.º: 8, la SEQ ID N.º: 9, o la SEQ ID N.º: 10, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.

10

**[0095]** Aún más preferiblemente, un polipéptido adecuado para la invención puede ser un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 7, la SEQ ID N.º: 8, o la SEQ ID N.º: 9, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.

15

**[0096]** Según otra forma de realización, un polipéptido adecuado para la invención también puede ser un polipéptido natural o sintético, cuando sea apropiado capaz de obtenerse después de la lisis enzimática o química de la lacritina o por síntesis química o biológica o por extracción de un tejido biológico, por ejemplo piel, que expresa este polipéptido de manera natural o después de la transfección del mismo, y también las varias formas postraduccionales de dicho polipéptido, o bien cualquier polipéptido natural o sintético cuya secuencia completa o parcialmente (total o parcialmente) comprenda una secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente, por ejemplo las variantes y los análogos.

20

**[0097]** Los expertos en la técnica pueden obtener un polipéptido conforme a la invención por medio de métodos basados en ADN recombinante, por ejemplo los descritos en el "Molecular Cloning - A Laboratory Manual" (2ª ed.), Sambrook et al., 1989, Vol. I-III, Coldspring Harbor Laboratory, Coldspring Harbor Press, NY (Sambrook).

25

**[0098]** Ventajosamente, un polipéptido de la invención puede estar codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por la SEQ ID N.º: 1, la SEQ ID N.º: 2, o la SEQ ID N.º: 3, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.

30

**[0099]** Según otra forma de realización, un polipéptido adecuado para la implementación de la invención también puede ser un polipéptido tal como se ha definido anteriormente, fusionado con otro polipéptido, un agente de direccionamiento hidrófilo o hidrofóbico, un precursor de bioconversión, o un agente de marcado luminiscente radiactivo o colorimétrico.

35

**[0100]** De manera no limitativa, se puede mencionar, como un ejemplo de compuestos que se pueden acoplar con un polipéptido conforme a la invención, de proteínas fluorescentes tales como la proteína verde fluorescente, compuestos químicos fluorescentes tales como rodamina, fluoresceína o Texas Red®, compuestos fosforescentes, elementos radiactivos, tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{121}\text{I}$  o  $^{125}\text{I}$ , o agentes de marcaje colorimétrico tales como los sustratos cromogénicos sensibles a la acción de la galactosidasa, de la peroxidasa, de la cloranfenicol acetiltransferasa, de la luciferasa o de la fosfatasa alcalina.

40

**[0101]** Dependiendo de la naturaleza de los compuestos que se pueden acoplar con un polipéptido conforme a la invención, el acoplamiento se puede realizar por métodos químicos, en particular por medio de funciones químicas reactivas, o por métodos de biología molecular conocidos por los expertos en la técnica.

45

## 50 ÁCIDOS NUCLEICOS

**[0102]** Según una forma de realización, la presente invención también se refiere a secuencias de ácidos nucleicos que codifican un polipéptido de la invención y al empleo de las mismas en los varios usos y métodos conforme a la invención.

55

**[0103]** Por lo tanto, la presente invención también se refiere al uso de una secuencia de ácidos nucleicos, en particular una secuencia de ácido desoxirribonucleico o una secuencia de ácido ribonucleico, representada por la SEQ ID N.º: 1, un análogo de la misma o un fragmento de la misma.

**[0104]** Para el propósito de la presente invención, el término "fragmento de secuencia de ácidos nucleicos" pretende significar una secuencia de ácidos nucleicos que codifica de un polipéptido conforme a la invención, especialmente tal como se ha definido anteriormente, y en particular una secuencia de ácidos nucleicos representada por la SEQ ID N.º: 2, o la SEQ ID N.º: 3, o un análogo del mismo.

**[0105]** El término "análogo de una secuencia de ácidos nucleicos" pretende significar cualquier secuencia de ácidos nucleicos que posiblemente resulte de la degeneración del código de ácido nucleico, y que codifica un polipéptido conforme a la invención, en particular tal como se ha definido anteriormente.

**[0106]** Las secuencias de ácido nucleico se pueden derivar de todos los orígenes posibles, es decir de origen animal, en particular de origen mamífero e incluso más particularmente de origen humano, o de origen vegetal, o de origen microbiano, por ejemplo virus, fagos o bacterias, entre otros, o incluso de origen fúngico, sin perjuicio de si o no están presentes de forma natural en dicho organismo de origen.

**[0107]** Según una forma de realización, la invención también se refiere a las secuencias de ácidos nucleicos aisladas y purificadas que codifican los polipéptidos en consideración según la invención, y también a los análogos y fragmentos de los mismos.

**[0108]** Una secuencia de ácidos nucleicos conforme a la invención puede comprender una secuencia de sentido, antisentido, o de interferencia que se corresponde con una secuencia que codifica un polipéptido conforme a la invención.

**[0109]** Un objeto de la invención son también secuencias de ácidos nucleicos, en particular secuencias de ácido desoxirribonucleico o ribonucleico, que comprenden una secuencia de sentido o antisentido, en particular ARN pequeño de interferencia (ARNip), que corresponde al menos a una secuencia que codifica un polipéptido de la invención o una secuencia de ácidos nucleicos representada por la SEQ ID N.º: 1, la SEQ ID N.º: 2, o la SEQ ID N.º: 3, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.

## DETECCIÓN

### Método de detección

**[0110]** Se describe el uso de al menos un polipéptido conforme a la invención, o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, como una herramienta para la detección de compuestos biológicos o químicos o para tratamientos físicos capaces de modular la actividad biológica, la estabilidad y/o la expresión de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, o la interacción de dicho polipéptido con el sindecano-1.

**[0111]** Los compuestos biológicos o químicos seleccionados o los tratamientos físicos se pueden usar ventajosamente para cuidar para la piel y sus apéndices.

**[0112]** Un método para detectar compuestos biológicos o químicos o para tratamientos físicos capaces de modular la expresión de un polipéptido conforme a la invención, o de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, puede comprender al menos los pasos que consisten en:

- a) poner al menos una célula aislada capaz de expresar dicho polipéptido o dicha secuencia de ácidos nucleicos en contacto con al menos un compuesto químico o biológico que se ha de evaluar, o exponer dicha célula aislada al tratamiento físico que se ha de evaluar, en condiciones adecuadas para la expresión de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos,
- b) realizar una medición cualitativa o cuantitativa de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, y
- c) comparar dicha medición con una medición de referencia.

**[0113]** Una medición de referencia se puede obtener repitiendo los pasos a) y b) en ausencia de compuestos biológicos o químicos, o de tratamientos físicos que se han de evaluar.

**[0114]** Una secuencia de ácidos nucleicos adecuada para la implementación de un método según la invención puede ser ventajosamente una secuencia de ácidos nucleicos que codifica lacritina, por ejemplo del tipo ARNm.

5 **[0115]** La medición cualitativa o cuantitativa de la expresión de una secuencia de ácidos nucleicos se puede determinar, por ejemplo, por medio de sondas de oligonucleótidos, usando cualquier protocolo conocido por los expertos en la técnica.

10 **[0116]** A modo de ejemplo de métodos para detectar secuencia de ácidos nucleicos, cabe mencionar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa (q-PCR) o no cuantitativa, en presencia o ausencia de transcriptasa inversa (RT-PCR o Q-RT-PCR), de la técnica de Northern blot, del método de ensayo de protección de ribonucleasas, de métodos con chips de ADN, de métodos con chips de transcriptoma, de métodos con chips de oligonucleótidos, y de métodos de hibridación *in situ*.

15 **[0117]** A modo de ejemplo de agentes adecuados para la detección de una secuencia de ácidos nucleicos, y en particular de ARNm, se pueden mencionar sondas de ácido nucleico marcadas que pueden hibridarse con una secuencia de ácidos nucleicos conforme a la invención.

20 **[0118]** Tal sonda de ácidos nucleicos se puede obtener fácilmente mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica.

25 **[0119]** Por lo tanto, las secuencias de ácidos nucleicos conforme a la invención se pueden usar para preparar cebadores de oligonucleótidos de sentido y/o antisentido que se hibridan, en condiciones de alta astringencia, con al menos una de las secuencias SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 2, o SEQ ID N.º: 3, un análogo de la misma o un fragmento de la misma.

30 **[0120]** La expresión de una secuencia de ácidos nucleicos también se puede determinar, indirectamente, determinando la expresión del polipéptido codificado por dicha secuencia, por medio de cualquier técnica conocida en el campo, tal como el método de Western blot, ELISA, el método de Bradford o de Lowry, o como se indica más adelante.

35 **[0121]** La medición cualitativa o cuantitativa, en particular un contenido, de un polipéptido conforme a la invención se puede llevar a cabo por medio de cualquier método conocido por los expertos en la técnica.

40 **[0122]** Por medio de métodos para detectar un polipéptido, se pueden mencionar el método de Western blot, el método de slot blot, método de dot blot, ELISA (ensayo de inmunoabsorción enzimática) métodos del tipo singleplex o multiplex, métodos proteómicos o glicómicos, métodos donde los polipéptidos en un gel de poliacrilamida se tiñen con un tinte basado en plata, con azul de Coomassie o con SYPRO, métodos de Inmunofluorescencia, métodos de absorción de UV, métodos inmunohistoquímicos en microscopía convencional, electrónica o confocal, métodos FRET (transferencia de energía por resonancia de fluorescencia), métodos TR-FRET (FRET de resolución temporal), métodos FLIM (microscopía de formación de imágenes de vida de fluorescencia), métodos FSPIM (microscopía de formación de imágenes espectral de fluorescencia), métodos FRAP (recuperación de fluorescencia después del fotoblanqueamiento), métodos de gen indicador, métodos AFM (microscopía de fuerza atómica), métodos de resonancia de plasmón de superficie, métodos de microcalorimetría, métodos de citometría de flujo, métodos de biosensores, métodos de radioinmunoensayo (RIA), métodos de enfoque isoeléctrico, y ensayos enzimáticos, métodos que utilizan chips de péptidos, chips de azúcares, chips de anticuerpos, métodos espectrometría de masas, y métodos de espectrometría SELDI-TOF (Ciphergen).

55 **[0123]** Más generalmente, se pueden usar en particular métodos de inmunoensayo enzimático que usan soluciones de proteínas, que son más cuantitativos y sensibles. Estos métodos tipo ELISA combinan pares de anticuerpos para la captura y la detección específica del antígeno objetivo. Se pueden usar anticuerpos comerciales o anticuerpos policlonales, monoclonales o recombinantes que se han detectado específicamente. También se pueden utilizar técnicas ELISA multiplex de alta capacidad. Por lo tanto, se puede mencionar el enfoque multiplex tal como los anticuerpos en

microesferas Luminex (por ejemplo, Bioplex de Bio-Rad) o los anticuerpos en una superficie plana (matrices de anticuerpos) (por ejemplo, el enfoque propuesto por la empresa MesoScale Discovery).

5 **[0124]** En particular, puede ser ventajoso detectar la presencia de un polipéptido conforme a la invención por medio de un anticuerpo, cuando sea apropiado en una forma marcada. Tal anticuerpo se puede marcar por medio de una sustancia que sea directamente detectable o detectable por reacción con otro reactivo.

10 **[0125]** El término "anticuerpo" pretende significar, en general, anticuerpos policlonales o monoclonales, y también fragmentos de inmunoglobulina capaces de unirse a un antígeno y que pueden ser producidos por cualquier técnica de ingeniería genética conocida por los expertos en la técnica o por escisión química o enzimática de un anticuerpo intacto.

15 **[0126]** Un anticuerpo capaz de ser utilizado como una herramienta para evaluar una condición de una epidermis se puede obtener por medio de cualquier método conocido por los expertos en la técnica, tal como se describe en "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990).

20 **[0127]** Según otra forma de realización, un método para detectar compuestos biológicos o químicos capaces de modular la actividad biológica de un polipéptido conforme a la invención comprende al menos los pasos que consisten en:

- 25 a) poner al menos un polipéptido aislado conforme a la invención en contacto con al menos un compuesto químico o biológico que se ha de evaluar, bajo condiciones adecuadas para la manifestación de la actividad biológica de dicho polipéptido,  
 b) realizar una medición cualitativa o cuantitativa de dicha actividad biológica, y  
 c) comparar dicha medición con una medición de referencia.

30 **[0128]** Los compuestos biológicos o químicos seleccionados se pueden usar ventajosamente para cuidar para la piel y sus apéndices.

**[0129]** Una medición de referencia se puede obtener repitiendo los pasos a) y b) en ausencia de compuestos biológicos o químicos que se han de evaluar.

35 **[0130]** Según una forma de realización, un polipéptido aislado se puede usar en un sistema acelular, es decir en un sistema que no comprende células pero que reproduce las funciones celulares, o en una muestra de células aisladas.

40 **[0131]** Según otra forma de realización, un sistema acelular también puede ser adecuado para un método de detección de compuestos biológicos o químicos o para tratamientos físicos capaces de modular la expresión de una secuencia de ácidos nucleicos conforme a la invención.

45 **[0132]** El término "actividad biológica" pretende significar, en particular con respecto a la lacritina, una actividad biológica del polipéptido representado por la SEQ ID N.º: 4, la SEQ ID N.º: 5, o la SEQ ID N.º: 10, habiendo sufrido opcionalmente una glicosilación, y en particular una actividad biológica de unión al sindecano-1, de tipo mitogénico o antiinflamatorio, de curación, regulación de la seborrea o de la sudoración, o de estimulación de la defensa antimicrobiana.

50 **[0133]** Según una forma de realización, la actividad biológica de un polipéptido de la invención puede ser en particular su actividad estimuladora en la proliferación y/o la renovación de las células terminales de la piel y/o del folículo piloso, y se puede determinar por cualquier método conocido por los expertos en la técnica, por ejemplo en queratinocitos en cultivo,

55 **[0134]** Según una forma de realización, la detección de un compuesto químico o biológico capaz de modular la actividad biológica de un polipéptido conforme a la invención se puede llevar a cabo midiendo la actividad biológica o la expresión de una molécula diana que pertenece a las vías de señalización o metabólicas donde dicho polipéptido puede estar implicado, tal como, por ejemplo, un sistema de gen indicador.

**[0135]** Se describen métodos para la detección de compuestos biológicos o químicos capaces de modular la interacción, o unión, de un polipéptido conforme a la invención con sindecano-1, que comprende al menos los pasos que consisten en:

- 5 a) poner en contacto al menos una molécula de sindecano-1, al menos un polipéptido conforme a la invención y al menos un compuesto químico o biológico que se ha de evaluar, en condiciones adecuadas para la unión entre dicho polipéptido y dicha molécula de sindecano-1,  
 b) medir la unión entre dicho polipéptido y dicha molécula de sindecano-1, y  
 c) comparar dicha medición con una medición de referencia.

10 **[0136]** Los compuestos biológicos o químicos seleccionados se pueden usar ventajosamente para cuidar para la piel y sus apéndices.

15 **[0137]** La medición de referencia se puede obtener repitiendo los pasos a) y b) en ausencia de compuestos que se han de evaluar.

**[0138]** La interacción o la unión entre un polipéptido de la invención y una molécula de sindecano-1 se puede llevar a cabo por cualquier método conocido por los expertos en la técnica.

20 **[0139]** Por ejemplo, la interacción o la unión entre un polipéptido de la invención y una molécula de sindecano-1 se puede evaluar midiendo el polipéptido unido, en relación con el polipéptido total usado. En tal uso, el sindecano-1 se puede unir a un soporte y el polipéptido usado se puede marcar, por ejemplo con un radioisótopo o un marcador fluorescente. Después de la incubación del polipéptido  
 25 marcado en presencia del sindecano-1 unido a un soporte y del compuesto que se va a evaluar, el soporte se lava a fin de eliminar el polipéptido libre, y el polipéptido unido al sindecano-1 se mide mediante la detección de una señal radiactiva o fluorescente, que puede ser cuantificada.

30 **[0140]** Por medio de un método adecuado en particular para la invención, para detectar una interacción entre dos polipéptidos, cabe mencionar la HTRF (fluorescencia resuelta temporal homogénea) o la SPR (resonancia de plasmón de superficie), de Biacore.

35 **[0141]** La expresión del polipéptido o de la secuencia de ácidos nucleicos, o la actividad biológica del polipéptido, o su interacción con el sindecano-1, puede no verse afectada por el compuesto o el tratamiento evaluado, o, por otro lado, se puede inhibir o estimular.

40 **[0142]** En el caso de que se observe una estimulación de la expresión, de la actividad biológica o de la interacción del polipéptido con sindecano-1, el compuesto o el tratamiento físico evaluado puede utilizarse, por ejemplo, para estimular la proliferación y/o la renovación de las células terminales de la piel y/o del folículo piloso, previniendo y/o tratando un trastorno de la piel y/o del cabello, previniendo  
 y/o tratando las señales cutáneas de envejecimiento, en particular previniendo y/o tratando el adelgazamiento de una epidermis y/o una pérdida de firmeza, de elasticidad, de densidad y/o de  
 45 tonicidad de una epidermis y/o la formación de arrugas y líneas de expresión, previniendo y/o tratando las señales cutáneas de sequedad, en particular previniendo y/o tratando la deshidratación de la piel, previniendo y/o tratando trastornos de la piel debido a un desequilibrio en las propiedades de barrera de la piel, estimulando las defensas antimicrobianas de la piel, fomentando la curación de la piel, estimulando las secreciones sudoríparas o sebáceas de la piel y así previniendo y/o tratando, respectivamente, un trastorno cutáneo asociado a la hipohidrosis o la hiposeborrea.

50 **[0143]** En el caso de que se observe una inhibición de la expresión, de la actividad biológica o de la interacción del polipéptido con sindecano-1, el compuesto o el tratamiento físico evaluado es capaz de usarse para, por ejemplo, reducir y/o inhibir las secreciones sudoríparas y/o sebáceas de la piel y así previniendo y/o tratando, respectivamente, un trastorno cutáneo asociado a la hiperseborrea o a la hiperhidrosis.

55 **[0144]** El método se puede llevar a cabo en una muestra de células aisladas, una muestra acelular o un polipéptido aislado, obtenido a partir de una biopsia de piel, o a partir de células en cultivo, en particular a partir de un modelo epidérmico, o a partir de una muestra de piel superficial del *stratum*

*corneum* tomada en particular por eliminación con cinta adhesiva (*tape stripping*) o mediante un lavado simple, como se describe más adelante.

5 [0145] Ventajosamente, por medio de una muestra de células adecuada para la invención, cabe mencionar una muestra de queratinocitos o de cualquier otro tipo de células de piel que expresen lacritina. Ventajosamente, un polipéptido usado en un método de acuerdo con la presente invención puede ser lacritina.

10 Agente de modulación

15 [0146] La expresión "agente de modulación" o "compuesto químico o biológico o tratamiento físico capaz de modular la expresión y/o la actividad biológica de un polipéptido de acuerdo con la invención y/o su interacción con el sindecano-1" pretende significar cualquier compuesto o fenómeno físico capaz de actuar, directa o indirectamente, en al menos un polipéptido conforme a la invención, o una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, o en un elemento de una ruta de señalización intracelular o extracelular, o de una ruta metabólica, implicando dicho polipéptido, o en un elemento implicado en la regulación de la transcripción y/o la traducción de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido.

20 [0147] El término "modulación", con respecto a un efecto dado, pretende significar la acción de estimular o inhibir este efecto, con el propósito en particular de atribuirle al mismo una intensidad fisiológica.

25 [0148] Los compuestos biológicos o químicos, o los tratamientos físicos, derivados a partir de un método de selección según la invención, se pueden usar ventajosamente con fines cosméticos o terapéuticos, en particular con respecto a trastornos estéticos o patológicos de la piel o el cabello.

30 [0149] Es posible detectar nuevos agentes activos, es decir compuestos biológicos o químicos, para el cuidado cosmético de la piel y sus apéndices, más particularmente para estimular la proliferación y/o la renovación de las células terminales de la piel y/o del folículo piloso, preferiblemente para prevenir y/o tratar un trastorno de la piel y/o del cabello.

35 [0150] Es posible detectar nuevos agentes cosméticos activos para prevenir y/o tratar las señales cutáneas de envejecimiento, en particular para prevenir y/o tratar el adelgazamiento de una epidermis y/o una pérdida de firmeza, de elasticidad, de densidad y/o de tonicidad de una epidermis y/o la formación de arrugas y líneas de expresión, para prevenir y/o tratar las señales cutáneas de sequedad, en particular para prevenir y/o tratar la deshidratación de la piel, para prevenir y/o tratar los trastornos de piel debido a un desequilibrio en las funciones de barrera de la piel, en particular para estimular las defensas antimicrobianas de la piel, para regular las secreciones sebáceas de la piel, en particular para prevenir y/o tratar los trastornos de piel asociados a la hiperseborrea o a la hiposeborrea, para regular la sudoración, en particular para prevenir y/o tratar trastornos de piel asociados a la hipohidrosis o la hiperhidrosis, y para estimular el crecimiento de vello corporal y del pelo.

45 [0151] Es posible detectar nuevos agentes activos, es decir compuestos biológicos o químicos, para el cuidado terapéutico de la piel y sus apéndices, más particularmente para promover la curación de la piel.

50 [0152] Según una forma de realización, un agente de modulación biológico o químico adecuado para la invención puede ser un agente que estimula la actividad, la estabilidad o la expresión de dicho polipéptido, o su interacción con el sindecano-1.

[0153] En particular, un agente de modulación puede ser un agente estimulante tal como la mezcla compuesta de un lisado de *Bifidobacterium longum* y de salicilato de fitosfingosina.

55 [0154] Tal mezcla puede ser en particular una composición que comprende un suero compuesto de lisado de *Bifidobacterium longum* al 10 % (Bifidiobiotic complex CLR) y fitosfingosina-SLC al 0,002 %.

[0155] Según otra forma de realización, un agente de modulación biológico o químico adecuado para



la invención puede ser un agente que inhibe la actividad, la estabilidad o la expresión de dicho polipéptido, o su interacción con el sindecano-1.

5 **[0156]** En particular un agente de modulación puede ser un agente de inhibición elegido de péptidos o peptidomiméticos derivados de lacritina, proteasas o activadores de la proteólisis de lacritina, aptámeros de péptidos o nucleótidos y ARN de interferencia.

10 **[0157]** Entre los péptidos o peptidomiméticos, al menos una de las secuencias elegidas de entre la SEQ ID N.º: 7, la SEQ ID N.º: 8, la SEQ ID N.º: 9, o la SEQ ID N.º: 10 se consideran más particularmente.

**[0158]** Según una forma de realización, un agente de modulación de la invención no es un lisado de *Bifidobacterium longum* no asociado a un salicilato de fitosfingosina.

15 **[0159]** Según otra forma de realización, un agente de modulación de la invención no es un salicilato de fitosfingosina no asociado a un lisado de *Bifidobacterium longum*.

20 **[0160]** Según una forma de realización, un agente de modulación conforme a la invención no es un lisado de *Bifidobacterium longum* asociado a un agente anticontaminación o un agente que muestra un efecto de irritación. En particular un agente de modulación conforme a la invención no es un lisado de *Bifidobacterium longum* asociado a un ácido elágico o fenoxietanol.

25 **[0161]** Según otra forma de realización, un agente de modulación conforme a la invención no es un lisado de *Bifidobacterium longum* asociado a la vitamina E, al ácido ascórbico o a una sal de ácido ascórbico, tal como el ascorbato de calcio o el ascorbato de magnesio, un aceite de semilla de grosella negra, un extracto de *Vitreoscilla filiformis*, un antioxidante, una matriz extracelular de plantas.

**[0162]** Según otra forma de realización, un agente de modulación conforme a la invención no es un salicilato de fitosfingosina asociado a un extracto de alga marrón *Padina pavonica*.

30 **[0163]** Según otra forma de realización preferida, un agente de modulación conforme a la invención no es un extracto de té negro, biotina, un fermento de *Thermus thermophilus*, una bacteria de ácido láctico, y en particular *Streptococcus thermophilus*.

35 **[0164]** Según una forma de realización preferida, un agente de modulación según la invención no es un ARNip del sindecano-1.

#### COMPOSICIONES

40 **[0165]** Se describe el uso de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, un análogo del mismo o un fragmento del mismo, de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica este polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de este polipéptido, o su interacción con el sindecano-1, como un agente que es de utilidad en el cuidado de la piel y sus apéndices.

45 **[0166]** Ventajosamente, tales polipéptidos, secuencias de ácidos nucleicos o agentes de modulación se pueden usar en una composición cosmética.

50 **[0167]** Según otra forma de realización, es el uso de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, un análogo del mismo o un fragmento del mismo, de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica este polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de este polipéptido, o su interacción con el sindecano-1, para la preparación de una composición terapéutica para el cuidado de la piel y de sus apéndices.

55 **[0168]** Las composiciones cosméticas y terapéuticas están más particularmente dedicadas a la prevención y/o tratamiento de condiciones de la piel, o de condiciones de los folículos pilosos, del vello corporal o del pelo tal como se ha definido anteriormente.

**[0169]** Se entiende que todas las composiciones cosméticas o terapéuticas en consideración según la invención usan un medio fisiológicamente aceptable.

5 **[0170]** El término "medio fisiológicamente aceptable" pretende significar un medio adecuado para la aplicación de una composición en la piel, el cuero cabelludo, los labios y en fibras de queratina tales como el pelo, las uñas y el vello corporal, o, según corresponda, por vía oral o por vía parenteral.

10 **[0171]** En general, cualquier composición se puede aplicar en la piel, en particular en cualquier área de la piel del cuerpo, o sus apéndices, en particular en el vello corporal y en el pelo.

15 **[0172]** Una composición cosmética puede contener adyuvantes que son comunes en el campo de la cosmética, tales como agentes gelificantes hidrófilicos o lipofílicos, aditivos hidrófilicos o lipofílicos, conservantes, antioxidantes, disolventes, fragancias, productos de relleno, agentes de detección, absorbentes de olores y tintes.

20 **[0173]** Las cantidades de los varios constituyentes de las composiciones según la invención son las que se usan convencionalmente en los campos en consideración.

25 **[0174]** La cantidad de compuesto químico o biológico, de polipéptido, de secuencia de ácidos nucleicos o de agente de modulación conforme a la invención, contenida en una composición según la invención, a la que también se le hace referencia como "cantidad eficaz", depende, por supuesto, de la naturaleza del compuesto y del efecto deseado y puede por lo tanto variar en gran medida.

30 **[0175]** Para dar un orden de magnitud, una composición puede contener un agente de modulación conforme a la invención o un polipéptido en una cantidad que representa de un 0,00001 % a un 50 % del peso total de la composición, en particular en una cantidad que representa de un 0,001 % a un 10 % del peso total de la composición, y más particularmente en una cantidad que representa de un 0,1 % a un 1 % del peso total de la composición.

35 **[0176]** Según otra forma de realización, una composición cosmética o terapéutica también puede comprender al menos un agente activo cosmético y / o terapéutico adicional.

Agentes activos adicionales

40 **[0177]** Como ejemplos de agentes activos adicionales que se pueden usar, se pueden mencionar aceites cosméticos, tales como aceites de silicona, aceites vegetales de tipo triglicérido, aceites a base de hidrocarburos tal como aceite de Parleam, y ésteres de ácidos grasos y de alcoholes grasos.

45 **[0178]** También puede ser posible usar otros agentes activos que permiten mejorar la condición de la piel y/o de sus apéndices, tales como agentes activos hidratantes o humectantes o agentes activos que permiten mejorar la barrera lipídica natural, tales como ceramidas, sulfatos de colesterol y/o ácidos grasos, y mezclas de los mismos.

50 **[0179]** También puede ser posible usar enzimas que tienen una actividad en la piel y/o sus apéndices, tales como proteasas, lipasas, glucosidasas, amidasas, cerebrosidasas y/o melanasas, y mezclas de los mismos.

55 **[0180]** Otros ejemplos de agentes activos adecuados incluyen: agentes activos analgésicos, agentes activos antilevaduras, agentes activos antibacterianos, agentes activos antiparasitarios, agentes activos antifúngicos, agentes activos antivíricos, agentes activos antiinflamatorios esteroideos, agentes activos anestésicos, agentes activos antipruríticos, agentes activos queratolíticos, agentes activos captadores de radicales libres, agentes activos antiseborreicos, agentes activos anticaspa, agentes activos antiacné, agentes activos destinados a prevenir el envejecimiento de la piel y/o a mejorar la condición de la misma, agentes activos antidermatitis, agentes activos antiirritantes, agentes activos inmunomoduladores, agentes activos para el tratamiento de piel seca, agentes activos antitranspirantes, agentes activos antipsoriáticos, agentes activos para la protección contra la radiación UV, agentes activos antihistamínicos, agentes activos de curación, agentes activos de autobronceado, antioxidantes tales como el té verde o fracciones activas de los mismos, glicerol, laponita, cafeína,

aceites esenciales aromáticos, colorantes, agentes activos despigmentantes, liporreguladores, agentes activos emolientes, refrescantes, desodorizantes, desensibilizantes, blanqueadores o nutritivos, agentes activos para reducir la diferenciación cutánea y/o la proliferación y/o pigmentación de la piel, y mezclas de los mismos.

5

EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN DE UNA EPIDERMIS

[0181] La presente invención se refiere al uso de al menos un polipéptido conforme a la invención o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, como una herramienta para la caracterización *in vitro* o *ex vivo* de una condición de la piel.

10

[0182] Las condiciones de la piel en consideración en la invención son en particular tal como se han definido anteriormente.

15

[0183] Es posible caracterizar según la invención una condición de la piel elegida de entre sequedad de piel, tal como xerosis, y envejecimiento de piel, en particular envejecimiento cronológico y/o fotoinducido,

20

[0184] El uso hace posible caracterizar una condición de la piel elegida de entre la sequedad de la piel o el envejecimiento cronológico y/o fotoinducido de la piel.

25

[0185] Según una forma de realización, un método para caracterizar una condición de la piel comprende al menos los pasos que consisten en:

30

- a) realizar, en una muestra aislada de dicha piel, una medición cualitativa o cuantitativa de un polipéptido conforme a la invención, o de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, y
- b) comparar dicha medición realizada en el paso a) con una medición de referencia.

35

[0186] Se puede obtener una medición de referencia a partir de una muestra de piel descrita como normal desde un punto de vista fisiológico, tal como piel joven y normalmente hidratada. La observación de una desviación entre la medición de referencia y la medición de prueba, en particular la medición en el paso a), puede ser un indicador de un posible trastorno de la piel que se puede corregir usando compuestos de la invención.

40

[0187] Un método de la invención ventajosamente hace posible caracterizar una condición de la piel como sequedad de la piel o envejecimiento de piel cronológico y/o fotoinducido.

45

[0188] Según otro de sus aspectos, la presente invención se refiere al uso de al menos un polipéptido conforme a la invención, o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, para caracterizar la eficacia de un tratamiento cosmético para el cuidado de la piel y sus apéndices, en particular para caracterizar la eficacia de un tratamiento para un trastorno de la piel tal como se ha definido anteriormente.

50

[0189] Preferiblemente, el uso de la invención hace posible caracterizar la eficacia de un tratamiento cosmético para un trastorno de la piel elegido en particular de entre la sequedad de piel o el envejecimiento de piel cronológico y/o fotoinducido.

55

[0190] La presente invención también se refiere a un método cosmético, o alternativamente no terapéutico, para demostrar un efecto de un tratamiento cosmético capaz de hacer que un trastorno de la piel disminuya en un individuo, que comprende al menos los pasos que consisten en:

60

- a) realizar, antes de implementar el tratamiento o método cosmético, al menos una primera medición, en una primera muestra de epidermis tomada de dicho individuo, de una actividad biológica y/o de la expresión de un polipéptido conforme a la invención, o de la expresión de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido,
- b) realizar, después de que se haya implementado el tratamiento o método cosmético, al menos una segunda medición, en una segunda muestra de la epidermis tomada de dicho individuo, de

dicha actividad biológica y/o de dicha expresión de dicho polipéptido o de dicha expresión de dicha secuencia de ácidos nucleicos, determinada en la etapa a), y

c) comparar las primeras y segundas mediciones, en particular para deducir de estas una información relacionada con al menos un efecto de la implementación del tratamiento cosmético.

5

**[0191]** Las mediciones realizadas en pasos a) y/o b) de los métodos anteriores se pueden llevar a cabo por medio de cualquier método conocido por los expertos en la técnica y, por ejemplo, según uno de los métodos previamente descritos.

10

**[0192]** Preferiblemente, el método de la invención hace posible demostrar un efecto de un tratamiento cosmético capaz de causar que disminuya un trastorno de la piel, dicho trastorno de la piel siendo tal como se ha definido anteriormente, elegido en particular de entre la sequedad de piel o el envejecimiento de piel cronológico y/o fotoinducido.

15

**[0193]** Los métodos de la invención son particularmente ventajosos en la medida en que su implementación no requiere el recurso a una técnica invasiva. Puede obtenerse por tanto una muestra de epidermis por medio de técnicas de "eliminación" y analizarse directamente por medio de una técnica analítica convencional, en particular tal como se ha descrito anteriormente.

20

**[0194]** Estas eliminaciones son superficies adhesivas aplicadas a la superficie de la epidermis, tales como Blenderm® de 3M, D'squam (adhesivo comercial de CuDERM), pegamento de cianoacrilato o el método de eliminación de barniz. En virtud de estas eliminaciones, los corneocitos adherentes y el contenido de sus espacios intercelulares se pueden muestrear y someter posteriormente a una extracción que hacen posible acceder al contenido de proteína.

25

**[0195]** La toma de una muestra adecuada para un método de la invención también se puede realizar más directamente al "lavar" la superficie de la piel por medio, por ejemplo, de accesorios del tipo de turbina de paletas, del tipo de celda espiral (como se describe en la Patente FR 2 667 778) combinado con un circuito de fluido, o sencillamente mediante la adición/retirada de una gota de tampón en la superficie de la piel.

30

**[0196]** A modo de indicación, otros métodos de muestreo adecuados para la implementación la invención pueden ser mencionados, tales como métodos basados en el raspado de la parte superior del *stratum corneum* por medio de un sistema de doble cuchilla. Esta técnica hace posible recolectar escamas que luego pueden ser analizadas directamente por varias técnicas para determinar el contenido de minerales, aminoácidos o lípidos.

35

**[0197]** Un método según la invención también se puede realizar en una muestra de epidermis tomada a partir de un modelo de células de epidermis, o a partir de una piel aislada reconstruida para definir la condición de la misma.

40

**[0198]** Como se ha indicado anteriormente, los usos y métodos de la invención se llevan a cabo ventajosamente *in vitro* o *ex vivo*. Sin embargo, estos usos o métodos también pueden ser realizados *in vivo* sin cirugía en mamíferos no-humanos o en seres humanos, en particular a través de ensayos clínicos, a fin de, por ejemplo, evaluar la eficacia clínica o la inocuidad de varios tratamientos para los trastornos de la piel, por ejemplo tal como se ha definido anteriormente.

45

**[0199]** Se describe un método para el tratamiento cosmético de un trastorno de la piel, que comprende al menos un paso que consiste aplicar al menos una composición cosmética conforme a la invención a al menos una parte de la piel, el vello corporal y/o el pelo.

50

**[0200]** Ventajosamente, un método de la invención hace posible tratar un trastorno de la piel tal como se ha definido anteriormente, y en particular elegido de entre la sequedad de piel o el envejecimiento de la piel cronológico y/o fotoinducido.

55

**[0201]** También se describe el uso de una cantidad eficaz de al menos un polipéptido conforme a la invención o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de dicho polipéptido o de dicha

secuencia de ácidos nucleicos, o la interacción de dicho polipéptido con sindecano-1, para preparar y/o mejorar un modelo de células epiteliales pluriestratificadas, en particular de tipo epidérmico o mucoso, y en particular un modelo de piel reconstruido.

5 **[0202]** Existe una gran ventaja en el desarrollo de modelos organotípicos que estén lo más cerca posible de las condiciones *in vivo*, para evaluar la seguridad y la eficacia de los agentes activos y las formulaciones con aplicaciones cosméticas y dermatológicas.

10 **[0203]** El uso de lacritina en un medio de cultivo es capaz de mejorar la calidad de los modelos desarrollados.

15 **[0204]** Se describe también un método para preparar una piel reconstruida aislada, que comprende al menos el paso de traer al menos una cantidad eficaz de al menos un polipéptido conforme a la invención o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, o de al menos un agente que modula la actividad, la estabilidad o la expresión de dicho polipéptido o de dicha secuencia de ácidos nucleicos, o la interacción de dicho polipéptido con sindecano-1, en contacto con células capaces de generar una piel reconstruida aislada, y en particular queratinocitos.

20 **[0205]** El término "modelo de piel reconstruida" pretende significar un modelo donde se combinan varios tipos de células, tales como, en particular, los constituyentes naturales de la piel, como, por ejemplo, queratinocitos, fibroblastos, células de Langerhans y melanocitos. Las células de fibroblastos pueden opcionalmente ser irradiadas.

25 **[0206]** Tales modelos y la preparación de los mismos son conocidos por los expertos en la técnica.

**[0207]** Para el propósito de la presente invención, "uno" debería entenderse, a menos que se indique lo contrario, que significa "al menos uno".

30 **[0208]** Los ejemplos y figuras a continuación se proporcionan a modo de ilustración no limitativa de la invención.

## Figuras

### **[0209]**

35 **Figura 1:** representa las secuencias de ácidos nucleicos SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 2, y SEQ ID N.º: 3.

40 **Figura 2:** representa las secuencias de aminoácidos SEQ ID N.º: 4, SEQ ID N.º: 5, SEQ ID N.º: 6, SEQ ID N.º: 7, SEQ ID N.º: 8, SEQ ID N.º: 9, y SEQ ID N.º: 10.

### **Ejemplo 1:** *Demostración de la expresión de la lacritina en la piel*

a) Protocolo

45 **[0210]** Se toman muestras de eliminación de barniz *in vivo*, según el protocolo descrito en Mehl et al. *J Biol Chem.*, 2000, 275(17):12841-7, de dos antebrazos (parte posterior), sobre un área con una superficie de 90 cm<sup>2</sup>, de dos grupos de individuos:

- 50 1) Grupo de piel joven: 30-40 años, 20 individuos, piel seca.  
2) Grupo de piel envejecida: 60-65 años, 20 individuos, piel seca.

**[0211]** Estas muestras de piel (eliminación de barniz de *stratum corneum*) son analizadas después por proteómica por medio de una técnica de "etiquetado isobárico", a fin de evaluar la expresión de varias proteínas entre una piel joven frente a una piel envejecida.

55 **[0212]** Esta técnica de "etiquetado isobárico" o iTRAQ™ se basa en el etiquetado de péptidos tripticos con una serie de reactivos, que se denominan isobáricos ya que todos tienen una masa molecular de

145 Da y forman un enlace covalente con las aminas primarias del extremo amino-terminal de la cadena lateral de residuos de lisina.

5 **[0213]** Los péptidos marcados se detectan por medio de una espectrometría de masas con la masa intrínseca del péptido + 145 Da, que se origina a partir del reactivo. En la fase de fragmentación del péptido, la contribución de cada uno de los reactivos se evalúa por la liberación de iones (fragmentos) que tienen masas diferentes específicas.

10 **[0214]** Dicho método está descrito en detalle por Zieske (J. Exp. Bot., 2006, 57:1501) o Wiese et al. (Proteomics, 2007, 7: 340).

**[0215]** El protocolo usado, a saber el kit iTRAQ Reagents Multiplex (4352135), de Applied Biosystems, se empleó conforme a las instrucciones del fabricante.

15 **[0216]** La expresión de las proteínas de las muestras tomadas se evalúa por medio de dos estudios iTRAQ realizados en paralelo.

#### b) Resultados

20 **[0217]** Un análisis por proteómica diferencial basado en los péptidos de las secuencias de aminoácidos representadas por la SEQ ID N.º: 7, la SEQ ID N.º: 8, y la SEQ ID N.º: 9 muestran que la lacritina humana (uniprotKB/swissprot: Q9GZZ8 o SEQ ID NO: 4) se identifica para todas las muestras descritas anteriormente. Por lo tanto se determinan las proporciones de piel envejecida/piel seca y los resultados de la cuantificación para la lacritina indican una proporción media envejecida/joven igual a 0,38  
25 (desviación estándar = 0,33), que demuestra que la lacritina no solo se expresa en el *stratum corneum* de una epidermis humana, sino que, además, se expresa de forma predominante en el grupo de piel joven y tiene una tendencia a estar subexpresada con la edad.

30 **[0218]** Por lo tanto, en vista de estos resultados, es posible aprovecharse de la lacritina como un marcador nuevo para una condición de la piel, en particular de la piel envejecida.

**Ejemplo 2:** Evaluación del efecto de una composición que contiene lisado de *Bifidobacterium longum* al 10 % y fitosfingosina SLC al 0,002 % en el nivel de expresión de lacritina

#### 35 a) Protocolo

**[0219]** El presente estudio se refiere a muestras de eliminación de barniz, tomadas tal como se describe en Mehul et al., *J Biol Chem.*, 2000, 275(17): 12841-7, sobre una superficie con un área de 90 cm<sup>2</sup> del antebrazo, parte posterior, de 24 individuos femeninos entre las edades de 40 y 45 años, y que tienen una característica de "piel seca".  
40

**[0220]** 16 de estos individuos son tratados tópicamente solo en uno de los dos brazos, dos veces al día, por la mañana y por la noche, durante 56 días, es decir 2 meses, con una composición cosmética caracterizada por un suero compuesto por lisado de *Bifidobacterium longum* al 10 % (Bifidiobiotic complex CLR) y fitosfingosina SLC al 0,002 %.  
45

**[0221]** Entre los individuos evaluados con la composición cosmética, cada uno es su control propio dado que se toman muestras de ambos brazos pero solo se trata un brazo.

50 **[0222]** Complex CLR es un lisado registrado con el nombre INCI: Bifidat ferment Lysate, con el nombre EINECS: *Bifidobacterium longum*, con el EINECS N.º: 306-168-4, y con el CAS N.º: 96507-89-0.

**[0223]** Tal lisado se vende en particular con el nombre Repair Complex CLR® por la empresa K. Richter GmbH.  
55

**[0224]** El derivado de salicilato de fitosfingosina es el producto vendido por la empresa Evonick Goldschmidt con el nombre de Phytosphingosine SLC®.

[0225] Por lo tanto, se toman muestras en D0 y D56 de cada uno de los 24 individuos, lo que permite comparar cuatro condiciones, a saber, D0, D56, individuos "no tratados" e individuos "tratados".

5 [0226] La lacritina presente en estas muestras se cuantifica luego por medio de un análisis por proteómica diferencial tal como se describe en ejemplo 1.

b) Resultados

10 [0227] Para cada condición de individuos "tratados" y "no tratados", se obtiene una media de las proporciones de D56/D0, lo que hace posible la evaluación del efecto del tratamiento asociado al producto cosmético.

[0228] Las proporciones de D56/D0 se calculan según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de efecto del tratamiento} = 100 \times \frac{\text{proporción de D56/D0 tratado} - \text{proporción de D56/D0 sin tratar}}{\text{proporción de D56/D0 sin tratar}}$$

15

[0229] La comparación de las medias de las proporciones D56/D0 de los individuos "tratados" y "no tratados" muestra un aumento en la expresión de lacritina en los individuos "tratados" del 491 % ± 220 después de 2 meses de tratamiento tópico con la composición evaluada.

20 [0230] Este estudio, que demuestra las propiedades estimulantes de la expresión de lacritina de dicha composición, hizo posible por lo tanto demostrar que la lacritina es en realidad una herramienta para la detección de compuestos biológicos o químicos, y, además, una herramienta eficaz para caracterizar la eficacia de un tratamiento cosmético para cuidar para la piel y sus apéndices.

25 LISTADO DE SECUENCIAS

[0231]

30

<110> L'OREAL

<120> Uso cosmético de polipéptidos de tipo lacritina

<130> PR91072

35

<150> FR 09 54929

<151> 2009-07-16

<160> 10

<170> PatentIn versión 3.3

40

<210> 1

<211> 417

<212> ADN

<213> Homo sapiens

45

<400> 1

ES 2 786 041 T3

	atgaaattta ccactctcct cttcttggca gctgtagcag gggccctggt ctatgctgaa	60
	gatgcctcct ctgactcgac gggtgctgat cctgccagg aagctgggac ctctaagcct	120
	aatgaagaga tctcaggtcc agcagaacca gcttcacccc cagagacaac cacaacagcc	180
	caggagactt cggcggcagc agttcagggg acagccaagg tcacctcaag caggcaggaa	240
	ctaaaccccc tgaaatccat agtggagaaa agtatcttac taacagaaca agcccttgca	300
	aaagcaggaa aaggaatgca cggaggcgtg ccaggtggaa aacaattcat cgaaaatgga	360
	agtgaatttg cacaaaaatt actgaagaaa ttcagtctat taaaacctg ggcattga	417
	<210> 2	
	<211> 360	
5	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 2	
	gaagatgcct cctctgactc gacgggtgct gatcctgcc aggaagctgg gacctctaag	60
	cctaatgaag agatctcagg tccagcagaa ccagcttcac cccagagac aaccacaaca	120
	gccaggaga cttcggcggc agcagttcag gggacagcca aggtcacctc aagcaggcag	180
	gaactaaacc ccctgaaatc catagtggag aaaagtatct tactaacaga acaagccctt	240
	gcaaaagcag gaaaaggaat gcacggaggc gtgccagggtg gaaaacaatt catcgaaaat	300
10	ggaagtgaat ttgcacaaaa attactgaag aaattcagtc tattaaaacc atgggcatga	360
	<210> 3	
	<211> 57	
	<212> ADN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 3	
	atgaaattta ccactctcct cttcttggca gctgtagcag gggccctggt ctatgct 57	
20	<210> 4	
	<211> 138	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 4	



ES 2 786 041 T3

Met Lys Phe Thr Thr Leu Leu Phe Leu Ala Ala Val Ala Gly Ala Leu  
 1 5 10 15

Val Tyr Ala Glu Asp Ala Ser Ser Asp Ser Thr Gly Ala Asp Pro Ala  
 20 25 30

Gln Glu Ala Gly Thr Ser Lys Pro Asn Glu Glu Ile Ser Gly Pro Ala  
 35 40 45

Glu Pro Ala Ser Pro Pro Glu Thr Thr Thr Thr Ala Gln Glu Thr Ser  
 50 55 60

Ala Ala Ala Val Gln Gly Thr Ala Lys Val Thr Ser Ser Arg Gln Glu  
 65 70 75 80

Leu Asn Pro Leu Lys Ser Ile Val Glu Lys Ser Ile Leu Leu Thr Glu  
 85 90 95

Gln Ala Leu Ala Lys Ala Gly Lys Gly Met His Gly Gly Val Pro Gly  
 100 105 110

Gly Lys Gln Phe Ile Glu Asn Gly Ser Glu Phe Ala Gln Lys Leu Leu  
 115 120 125

Lys Lys Phe Ser Leu Leu Lys Pro Trp Ala  
 130 135

<210> 5  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 5

5

ES 2 786 041 T3

Glu Asp Ala Ser Ser Asp Ser Thr Gly Ala Asp Pro Ala Gln Glu Ala  
 1 5 10 15

Gly Thr Ser Lys Pro Asn Glu Glu Ile Ser Gly Pro Ala Glu Pro Ala  
 20 25 30

Ser Pro Pro Glu Thr Thr Thr Thr Ala Gln Glu Thr Ser Ala Ala Ala  
 35 40 45

Val Gln Gly Thr Ala Lys Val Thr Ser Ser Arg Gln Glu Leu Asn Pro  
 50 55 60

Leu Lys Ser Ile Val Glu Lys Ser Ile Leu Leu Thr Glu Gln Ala Leu  
 65 70 75 80

Ala Lys Ala Gly Lys Gly Met His Gly Gly Val Pro Gly Gly Lys Gln  
 85 90 95

Phe Ile Glu Asn Gly Ser Glu Phe Ala Gln Lys Leu Leu Lys Lys Phe  
 100 105 110

Ser Leu Leu Lys Pro Trp Ala  
 115

5  
 <210> 6  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10  
 <400> 6

Met Lys Phe Thr Thr Leu Leu Phe Leu Ala Ala Val Ala Gly Ala Leu  
 1 5 10 15

Val Tyr Ala

15  
 <210> 7  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

20  
 <400> 7

Ser Ile Leu Leu Thr Glu Gln Ala Leu Ala Lys  
 1 5 10

25  
 <210> 8  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30  
 <400> 8

Gln Phe Ile Glu Asn Gly Ser Glu Phe Ala Gln Lys  
 1 5 10

<210> 9  
 <211> 9  
 <212> PRT

ES 2 786 041 T3

<213> Homo sapiens

<400> 9

5 Lys Phe Ser Leu Leu Lys Pro Trp Ala  
1 5

<210> 10

<211> 21

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Gly Lys Gln Phe Ile Glu Asn Gly Ser Glu Phe Ala Gln Lys Leu Leu  
1 5 10 15

Lys Lys Phe Ser Leu  
20

15

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de al menos un polipéptido de secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, un análogo del mismo o un fragmento del mismo, o de al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, como una herramienta para la caracterización *in vitro* o *ex vivo* de señales cutáneas de envejecimiento y/o señales cutáneas de sequedad, siendo el análogo del mismo un polipéptido que exhibe una identidad de secuencia con la secuencia representada por la SEQ ID N.º: 4 de al menos un 85 % y que tiene una actividad biológica de la misma naturaleza que el polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4
- 10 el fragmento del mismo siendo una porción del polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4 que comprende al menos 8 aminoácidos consecutivos de dicho polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4, y una actividad biológica sustancialmente similar a la del polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4.
- 15 2. Uso según la reivindicación 1, donde dicho fragmento del mismo del al menos un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 4 es un polipéptido de la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID N.º: 5, SEQ ID N.º: 6, SEQ ID N.º: 7, SEQ ID N.º: 8, SEQ ID N.º: 9, o SEQ ID N.º: 10.
- 20 3. Uso según la reivindicación 1 o 2, donde dicho polipéptido está codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por la SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 2, o SEQ ID N.º: 3, un análogo del mismo o un fragmento del mismo.
- 25 4. Método para caracterizar señales cutáneas de envejecimiento y/o una señal cutánea de sequedad de una piel, que comprende al menos los pasos que consisten en:
- 30 a) realizar, en una muestra aislada de dicha piel, una medición cualitativa o cuantitativa de un polipéptido tal y como se define según una de las Reivindicaciones 1, 2 y 3, o de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho polipéptido, y
- b) comparar dicha medición realizada en el paso a) con una medición de referencia.

**SEQ ID N.º: 1**

atgaaattaccactctcctcttcttggcagctgtagcaggggccctggctctatgctgaagatgcctcctctgactcgacgggtgctg  
atcctgccaggaagctgggaccttaagcctaatgaagagatctcagggtccagcagaaccagcttcacccccagagacaacca  
caacagccccaggagacttcggcggcagcagttcaggggacagccaagggtcacctcaagcaggcaggaactaaacccccctgaa  
atccatagtgagaaaaagtacttactaacagaacaagcccttgcaaaagcagggaaaaggaatgcacggaggcgtgccagggtg  
gaaaacaattcatcgaaaatggaagtgaattgcacaaaaattactgaagaaattcagctattaaaaacctgggcatga

**SEQ ID N.º: 2**

gaagatgcctcctctgactcgacgggtgctgatcctgccaggaagctgggaccttaagcclaatgaagagatctcagggtccag  
cagaaccagcttcacccccagagacaaccacaacagcccaggagacttcggcggcagcagttcaggggacagccaagggtca  
cctcaagcaggcaggaactaaacccccctgaaatccatagtgagaaaaagtacttactaacagaacaagcccttgcaaaagcag  
gaaaaggaatgcacggaggcgtgccagggtgaaaacaattcatcgaaaatggaagtgaattgcacaaaaattactgaagaaatt  
cagctattaaaaacctgggcatga

**SEQ ID N.º: 3**

atgaaattaccactctcctcttcttggcagctgtagcaggggccctggctctatgct

**FIGURA 1**

**SEQ ID N.º: 4**

MKFTTLLFLAAVAGALVYAEDASSDSTGADPAQEAGTSKPNEEISGPAEPASPPET  
TTTAQETSAAAVQGTAKVTSSRQELNPLKSIVEKSILLTEQALAKAGKGMIIIGGVP  
GGKQFIENGSEFAQKLLKKFSLKPWA

**SEQ ID N.º: 5**

EDASSDSTGADPAQEAGTSKPNEEISGPAEPASPPETTTTAQETSAAAVQGTAKVT  
SSRQELNPLKSIVEKSILLTEQALAKAGKGMHGGVPPGGKQFIENGSEFAQKLLKKF  
SLLKPWA

**SEQ ID N.º: 6**

MKFTTLLFLAAVAGALVYA

**SEQ ID N.º: 7**

SILLTEQALAK

**SEQ ID N.º: 8**

QFIENGSEFAQK

**SEQ ID N.º: 9**

KFSLKPWA

**SEQ ID N.º: 10**

GKQFIENGSEFAQKLLKKFSL

**FIGURA 2**