



Plan de Gestión de Datos

INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

1. – Datos del Proyecto

- Título del Proyecto (en castellano)

EFFECTOS DE LOS FILTROS SOLARES SOBRE PROCESOS CRÍTICOS DE LA GESTACIÓN: ENFOQUE *IN VITRO*

- Título del Proyecto (en inglés)

EFFECTS OF SOLAR FILTERS ON CRITICAL PROCESSES OF PREGNANCY: IN VITRO APPROACH

- Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen

Hay un creciente interés en el estudio de las cremas solares, debido a su creciente uso y porque muchos filtros solares son catalogados como estrógenos ambientales, e.d., perturbadores endocrinos que son capaces de unirse a receptores de estrógenos y desencadenar una respuesta agonista o antagonista de la acción de los estrógenos endógenos. Algunos de los filtros solares más ampliamente utilizados en la composición de cremas solares son el BP3, 4-MBC y OCT, y se ha demostrado que son capaces de alterar diversos procesos endócrinos y que se encuentran presentes en muestras de leche materna humana. Diversos resultados recientes de nuestro grupo muestran que distintos PE, incluyendo el filtro solar BP3, son capaces de afectar negativamente procesos críticos de la capacidad reproductiva y el correcto avance del desarrollo fetal durante la gestación. Lo más alarmante es el hecho de que muestran efectos perjudiciales de compuestos que ya están aprobados para su uso en seres humanos, poniendo de relieve que los actuales ensayos de evaluación de riesgo toxicológico que se exigen para que un compuesto pueda ingresar al mercado cosmético o farmacéutico no son capaces de revelar muchos de sus efectos sobre procesos críticos de fisiología reproductiva. Surge entonces la necesidad de contar con herramientas que permitan la detección temprana de estos efectos, que pasan inadvertidos con las actuales regulaciones de riesgo toxicológico. En este contexto, adquiere alta relevancia el desarrollo de modelos *in vitro* que permitan predecir los efectos tóxicos de estos compuestos y dilucidar las vías de acción de los mismos. Consecuentemente, el objetivo de este proyecto es utilizar diversos modelos *in vitro* que permitan estudiar las vías de disrupción endócrinas utilizadas por los filtros solares, mediante el uso de distintos ensayos de cultivo celular y de inhibidores específicos de los receptores hormonales. Para ello se evaluarán los efectos de BP3, 4-MBC y OCT en modelos *in vitro* de a) implantación, mediante ensayos de la capacidad de blastocistos de eclosionar e implantarse *in vitro*; b) placentación, mediante ensayos de proliferación, migración y capacidad de invasión de trofoblastos; c) foliculogénesis, estereidogénesis y ovulación, mediante cultivos de ovarios enteros y/o de folículos antrales aislados; d) fertilización *in vitro*.

- Descripción del Proyecto (en inglés) Resumen

There is an increasing interest in the study of sunscreens, due to their increasing use and because many sunscreens are classified as environmental estrogens, ie, endocrine disruptors that are capable of binding to estrogen receptors and trigger an agonist or antagonist response to action of endogenous estrogens. Some of the most widely used sunscreens in the composition of sunscreens are BP3, 4-MBC and OCT. It has been established that these UV filters are able to alter various endocrine processes and were detected in samples of human breast milk. Recent results from our group showed that different PEs, including the BP3 sunscreen, negatively affects critical processes of reproductive ability and intrauterine fetal development during pregnancy. Moreover, showed detrimental effects of compounds that are already approved for use in humans, highlighting that current toxicological risk assessment tests required for a compound to enter the cosmetic or pharmaceutical market are unable to reveal many of its effects on critical processes of reproductive physiology. The need then arises to have tools that allow the early detection of these effects, and thus are unnoticed with the current toxicological risk regulations. In this context, the development of *in vitro* models that allow predicting the toxic effects of these compounds and elucidating their pathways becomes highly relevant. Consequently, the objective of this project is to



use various in vitro models to study the endocrine disruption pathways used by solar filters, by using different cell culture assays and specific hormone receptor inhibitors. For this purpose, the effects of BP3, 4-MBC and OCT will be evaluated in the following in vitro assays a) implantation, by testing the ability of blastocysts to hatch and implant in vitro; b) placentation, by trophoblast proliferation, migration and invasion tests; c) folliculogenesis, steroidogenesis and ovulation, by cultures of whole ovaries and / or isolated antral follicles; d) in vitro fertilization.

- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en castellano)

PRODUCTOS DE CUIDADO
PERSONAL
FILTROS SOLARES
MÉTODOS IN VITRO
VALORACIÓN DE RIESGO
TOXICOLÓGICO

- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en inglés)

PERSONAL CARE PRODUCTS
UV FILTER
IN VITRO METHODS
TOXICOLOGICAL RISK
ASSESSMENT

2 – Datos del Director/ar del Proyecto

- Nombre y Apellido

HORACIO A. RODRÍGUEZ

- Unidad Académica

FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS.
INSTITUTO DE SALUD Y AMBIENTE DEL LITORAL (ISAL)

- Teléfono oficial de contacto

0342-4575207

-Teléfono móvil de contacto

0343-154-538539

-E-mail del Director/a del Proyecto

harodrig@fcb.unl.edu.ar
horacioarodriguez@hotmail.com

DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

-Describe la toma de muestras / datos a realizar

Se describe la toma de muestras y los datos a obtener para cada objetivo específico del plan de trabajo.

1. Evaluación de la capacidad de blastocistos de eclosionar e implantarse in vitro

1.a Muestras

Para este método se utilizan células epiteliales uterinas (UECs) y blastocistos provenientes de hembras en día 3,5 de gestación. Se utilizarán las UECs y blastocistos provenientes de hembras C57BL/6 preñadas de machos C57BL/6.

1.b Datos a obtener

Variables morfológicas: por microscopía y análisis de imágenes digitalizadas

- tiempo de implantación (cinética de anclaje)
- defectos de implantación.
- viabilidad.
- área del macizo celular interno y del blastocele,
- expansión del blastocisto
- área de implantación al sexto día.

Variables de expresión génica: niveles de ARNm por RT-PCR en tiempo real

- Para determinar la posible vía de acción, se evaluarán además los niveles de RE α , RE β , RA. También se medirán los niveles de ARNm de la vía de Heme-oxygenase-1



2. Evaluación de la proliferación, migración y capacidad de invasión de trofoblastos in vitro.

2.a Muestras

Se utilizará la línea de trofoblastos humana (Swan-71). Las células serán cultivadas en medio de cultivo DMEM suplementado con 10 mmol/L HEPES, aminoácidos no esenciales, 1 mmol/L piruvato de sodio, 100 U/mL penicilina, y 100 µg/mL estreptomina, conteniendo 10% (v/v) de suero fetal bovino. Se utilizará una variante del medio de cultivo que no posee rojo fenol (DMEM-F12), para evitar posibles efectos estrogénicos debidos al rojo fenol. Asimismo, se utilizará un suero fetal bovino pre-absorbido para evitar actividad hormonal de componentes del suero.

2.b Datos a obtener

En presencia de los compuestos en estudio, y en presencia o ausencia de los inhibidores específicos de RE α , RE β , RA, se evaluará la proliferación, migración y capacidad de invasión:

- Proliferación por tinción supravital y microscopía y/o citometría.
- Migración mediante el ensayo de herida (Scratch Assay),
- Capacidad de invasión, usando placas de 24 pozos con transwells (insertos) de 8 µm de tamaño de poro con Matrigel; las células con el compuesto en estudio serán colocadas en la parte superior en una densidad de 4x10⁵ células en medio con 2% de SFB, colocando medio con 10% SFB en la parte inferior.

- *Variables de expresión génica: niveles de ARNm por RT-PCR en tiempo real*

Para determinar la posible vía de acción, se evaluarán además los niveles de RE α , RE β , RA. También se expondrán las células a la presencia de los filtros solares junto con inhibidores específicos de cada uno de los receptores. En todos los casos se cuantificará la expresión de los ARNm de genes relacionados con la proliferación, migración, invasión y placentación de trofoblastos humanos: Survivina, E-caderina y DNMT1, MMP2 y TIMP2, receptores de VEGF y PIGF siguiendo protocolos previos de nuestro grupo.

De esta manera, los grupos experimentales proyectados son los siguientes (estimación de máxima, ya que se harán los grupos con inhibidor sólo si previamente se detectan cambios en esa concentración):

		Ensayo de implantación	Ensayo de placentación
Control		vehículo	vehículo
BP3	BP3 2 ng/mL	BP3 2	BP3 2
		BP3 2 + MPP	BP3 2 + MPP
		BP3 2 + PHTPP	BP3 2 + PHTPP
		BP3 2 + Flutamida	BP3 2 + Flutamida
	BP3 20 ng/mL	BP3 20	BP3 20
		BP3 20 + MPP	BP3 20 + MPP
		BP3 20 + PHTPP	BP3 20 + PHTPP
		BP3 20 + Flutamida	BP3 20 + Flutamida
	BP3 200 ng/mL	BP3 200	BP3 200
		BP3 200 + MPP	BP3 200 + MPP
		BP3 200 + PHTPP	BP3 200 + PHTPP
		BP3 200 + Flutamida	BP3 200 + Flutamida
4MBC	4MBC 0.2 ng/mL	BP3 0.2	BP3 0.2
		BP3 0.2 + MPP	BP3 0.2 + MPP
		BP3 0.2 + PHTPP	BP3 0.2 + PHTPP
		BP3 0.2 + Flutamida	BP3 0.2 + Flutamida
	4MBC 2 ng/mL	BP3 2	BP3 2
		BP3 2 + MPP	BP3 2 + MPP
		BP3 2 + PHTPP	BP3 2 + PHTPP
		BP3 2 + Flutamida	BP3 2 + Flutamida
	4MBC 20 ng/mL	BP3 20	BP3 20
		BP3 20 + MPP	BP3 20 + MPP
		BP3 20 + PHTPP	BP3 20 + PHTPP
		BP3 20 + Flutamida	BP3 20 + Flutamida



OCT	OCT 0.1 ng/mL	OCT 0.1	OCT 0.1
		OCT 0.1 + MPP	OCT 0.1 + MPP
		OCT 0.1 + PHTPP	OCT 0.1 + PHTPP
		OCT 0.1 + Flutamida	BP3 0.1 + Flutamida
	OCT 1 ng/mL	OCT 1	BP3 1
		OCT 1 + MPP	BP3 1 + MPP
		OCT 1 + PHTPP	BP3 1 + PHTPP
		OCT 1 + Flutamida	BP3 1 + Flutamida
	OCT 10 ng/mL	OCT 10	BP3 10
		OCT 10 + MPP	BP3 10 + MPP
		OCT 10 + PHTPP	BP3 10 + PHTPP
		OCT 10 + Flutamida	BP3 10 + Flutamida

– Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad/ser de acceso público? (marque X)

NO

SI. Elija una de las opciones:

a) Se encuentra en evaluación de protección por medio de patentes

b) No se inició el proceso de evaluación de patentabilidad, pero podría ser protegible

c) Existe un contrato con un tercero que impide la divulgación

d) Otro. Justifique.
Se solicita confidencialidad debido a que los resultados serán parte de una publicación científica en una revista especializada del área, para lo cual es necesario que los datos no hayan sido publicados con anterioridad.

– Período de Confidencialidad: Es el período durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El período máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad/serán de acceso público.

Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con “X”.

1 (UN) año

2 (DOS) años

3 (TRES) años

4 (CUATRO) año

5 (CINCO) años

Otro.

Motivos:



INSTRUCTIVO PARA COMPLETAR EL PLAN DE GESTIÓN (PGD)

El PGD no es un documento definitivo, sino que se desarrollará a lo largo del ciclo de vida del proyecto.

INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

1 – Datos del Proyecto

Título del Proyecto (en castellano): Deberá ingresar el título completo del proyecto (en castellano), indicando además el código asignado por la SCAyT.

Título del Proyecto (en inglés): Deberá ingresar el título completo del proyecto en inglés.

Descripción del Proyecto (en castellano): Deberá ingresar la descripción del Proyecto en castellano.

Descripción del Proyecto (en inglés): Deberá ingresar la descripción del Proyecto en inglés.

Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en castellano): Deberá ingresar tres palabras claves descriptivas del Proyecto, en castellano.

Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en inglés): Deberá ingresar tres palabras claves descriptivas del Proyecto, en inglés.

2- Datos del Director/a del Proyecto

Nombre y Apellido del Titular del Proyecto: Nombre completo y apellido del Titular del Proyecto.

Unidad Académica: Nombre de la Unidad Académica a la que pertenece el/la directora/a del Proyecto.

Teléfono oficial de contacto: Número de teléfono de la oficina/laboratorio/Institución del Director/a del Proyecto, donde pueda ser contactado, incluyendo número de área/país (ej: Para Santa Fe: + 54 9 342 4999-9999).

Teléfono móvil de contacto: Número de teléfono móvil del director/ar del Proyecto, donde pueda ser contactado, incluyendo número de área/país.

E-mail del Director/a del Proyecto: Correo electrónico de contacto del Director/a del Proyecto.

DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

Describe la toma de muestras/datos a realizar: Información descriptiva sobre la toma de muestras que resultarán en datos/conjuntos de datos. La descripción deberá



incluir información de contexto (lugar de toma de los datos; instrumentos, etc.)

Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad/ser de acceso público? Deberá marcar con una “X” la opción correcta. En caso de responder afirmativamente, deberá justificar debidamente, comprendiendo que sólo en casos de extrema excepcionalidad esta restricción de acceso a los datos resulta practicable/aceptable.

Período de Confidencialidad: Es el periodo durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El periodo máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad/serán de acceso público.

Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios.

Deberá indicar los años que considera necesario prorrogar el período de confidencialidad y explicar los motivos.

Dr. Horacio A. Rodríguez