

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 09/02/2019.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



EFEITOS DA EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA À BETAMETASONA SOBRE A REPRODUÇÃO DE RATOS *WISTAR*

CIBELE DOS SANTOS BORGES

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

Orientadora: Profa. Dra. Wilma De Grava Kempinas

**BOTUCATU – SP
2017**



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA À BETAMETASONA
SOBRE A REPRODUÇÃO DE RATOS *WISTAR*

CIBELE DOS SANTOS BORGES

Dra. WILMA DE GRAVA KEMPINAS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

Orientadora: Profa. Dra. Wilma De Grava Kempinas

**BOTUCATU – SP
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Borges, Cibele dos Santos.

Efeitos da exposição intrauterina à betametasona sobre a reprodução de ratos Wistar / Cibele dos Santos Borges. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Wilma De Grava Kempinas

Capes: 20100000

1. Betametasona. 2. Cuidado pré-natal. 3. Fecundidade. 4. Reprodução. 5. Rato como animal de laboratório.

Palavras-chave: Betametasona; Exposição intrauterina; Fertilidade; Gerações; Reprodução.

Dedicatoria

Este trabalho é dedicado à minha alma gêmea, minha mãe, Tereza Cristina dos Santos, uma mulher maravilhosa, batalhadora, altruísta, única, que ao longo de toda sua vida sempre me colocou em primeiro plano, sucumbindo todos os seus sonhos para que eu sempre fosse feliz, mesmo que isso significasse ficarmos longe por tanto tempo. Ela foi a primeira a perceber o quanto esta vida me faz feliz e completa e por isso sempre me apoiou em todas as minhas escolhas. Mãe, esta etapa da minha vida também é sua. Mãe, eu te amo!

Agradecimientos

Aos meus pais, **Tereza Cristina dos Santos e Leonílto Lopes Borges**, pelo incentivo, apoio, puxões de orelha, brigas e amor incondicional durante esta longa jornada.

À minha orientadora, **Dra. Wilma De Grava Kempinas**, que ajudou a me tornar uma pesquisadora, professora e sonhadora. Pelo apoio e pela confiança depositada ao longo destes seis maravilhosos anos de minha vida acadêmica. Obrigada pelas oportunidades incríveis, pelas discussões, pelos ensinamentos, pela admiração e pela amizade que levarei para toda minha vida e por tudo que ainda virá. “Se vi mais longe foi por estar de pé sobre ombros de gigantes” (Isaac Newton).

To Dr. **Daniel G. Cyr**, for your hard work with me, teaching me a different way to think and to work in research. For my 6 months in Laval- Quebec and the opportunity to see ice and the stronger winter.

To **Mary Gregory**, my second mother in Canada, my second supervisor in the Lab, my first friend in this different country. You are in my heart. Always!

Ao meu namorado, amigo, companheiro, cúmplice **Anderson dos Santos**, que tornou meus dias em Botucatu cada vez mais memoráveis. Pela leveza com que leva a vida, pelas brincadeiras, pelo apoio, por tudo que você tem me proporcionado desde que nos conhecemos. Obrigada por ter entrado na minha vida, você me faz bem.

À minha irmã de vida, amiga, companheira de casa, de alegrias e dificuldades, **Bianca Damasceno**. Sem você Botucatu não seria igual e com certeza eu nem estaria aqui. Obrigada por entrar na minha vida e fazer diferença. Você é tudo que eu precisava aqui e na minha vida. Te amo baixinha chata.

À minha primeira iniciação científica de doutorado, que se tornou parte fundamental da minha vida em Botucatu, pois se penso em um sorriso lindo, amizade a toda prova, penso em **Ana Flávia Mota Gonçalves Dias**.

À minha amiga de laboratório, de briguinhas bobas, de problemas pesados, dos medos demasiados, do imenso apoio, das verdades nuas e cruas, **Gabriela Missassi**. O mestrado me apresentou você como iniciação científica. O doutorado me mostrou a pessoa maravilhosa que você é nega. Seja feliz e quando der me dê um “uta”.

À minha eterna companheira de laboratório e casa, **Raquel Frenedoso da Silva**. Quem falou que amizade não dura à distância não conheceu uma amizade verdadeira, a nossa. Quero você sempre ao meu lado, nem que isso seja a km de distância. Você brilha longe... mesmo que o mundo inteiro pegue fogo.

À minha iniciação científica, **Taina Louise Pacheco**, que com seu jeitinho meigo foi entrando da minha vida e na minha pesquisa e cada vez mais contribuiu para que os nossos esforços tornassem sucesso.

À minha amiga de laboratório, **Patrícia Villela e Silva** que por um tempo brigamos, briguei, reclamei, mesmo pela sua insegurança segura, vi seu crescimento ao longo dos anos de laboratório, sua timidez contrapõe minha personalidade, mas mesmo assim torço por você.

À **Josiane de Lima Rosa**, que mesmo pelas idas e vindas, não conseguiu ficar longe da gente. Fazer pesquisa de maneira leve, inteligente e com muito sorriso é sempre com você. A esta pseudo princesa que de delicada só tem a aparência.

À **Thamiris Figueiredo**, que com seu jeito tímido conquistou seu espaço, gostaria que soubesse que você vai longe menina, pois vejo muito de mim em você e se eu estou alcançando meus sonhos, os seus também se tornarão realidade, bondade, eu vejo em você, não em mim.

Aos meus familiares, principalmente a minha avó Angelina dos Santos Moreira, minha prima Aline Oliveira, e meus primos Alan Faria dos Santos, Alex Faria dos Santos, Renan dos Santos Soares, Bruno dos Santos Barbosa, Newton Flávio dos Santos Oliveira Junior, por toda a admiração depositada e esperança no meu crescimento pessoal e profissional.

As meninas que fizeram e fazem parte da minha vida de alguma forma, e que eu sei que torcem pelo meu sucesso: Kênia de Souza Barreiro, Kamila Kihara, Mariana de Pieree e Beatriz Rosa Duarte.

Aos meninos do Laboratório de Farmacologia, Luis Ricardo Kiguti e Katiuscia Pinho Alves, pelo incentivo, ideias a mil e questionamentos que me fizeram sempre melhorar. Ao Fábio Fernandes do laboratório de nutrigenômica, pelas horas de conversa e apoio durante os longos dias de experimentação.

A toda equipe do Laboratório REPROTOX, pelo auxílio durante a execução do projeto, pelos conhecimentos transferidos e pela paciência ao ajudar.

Ao Prof. Dr. André Pupo, pela oportunidade de continuar o trabalho desenvolvido, almejando sempre novos horizontes e a Profa. Dra. Daisy Salvadori, pela disponibilidade e em ceder seu laboratório para que pudéssemos padronizar uma nova técnica e melhorar nosso trabalho.

Ao técnico de Laboratório José Eduardo Bozano, pela ajuda no processamento dos materiais e por ser sempre tão prestativo e divertido, você fez nossas horas de laboratório bem mais alegres.

À Senhora Terezinha Biondo Sauer, por continuar a ser esta senhora teimosa, mas maravilhosa, que me ajudou em vários momentos, e claro, pelos incríveis bolos de aniversário que a senhora me proporcionou.

Aos alunos que fui professora bolsista, que fizeram com que minha vontade em ser professora se tornasse certeza.

Aos funcionários da Pós-Graduação e a secretária do Departamento Luciana, pela ajuda e atenção.

Aos professores da minha Banca de Doutorado, pela disponibilidade e por compartilhar seus conselhos e aprendizados.

A todos que de alguma forma estiveram presentes em minha vida e envolvidos no meu trabalho e que possibilitaram mais esta vitória.

A FQRNT - The Fonds de recherche du Québec - Nature et technologies e The Natural Sciences Research Council of Canada pela concessão de uma bolsa para doutorado- sanduíche no Canadá sob o nº 155065-06.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo incentivo financeiro por meio do Processo nº 2012/25350-1.

E a DEUS que diante de tudo sempre me proporcionou vencer, concedeu-me vitórias que eu nunca imaginaria ganhar, realizações que nunca serão esquecidas, pois mesmo com inúmeros problemas, no final me concedia a luz no fim do túnel, a calma para vencer as inúmeras tormentas que vieram e que ainda virão.

Muito obrigada!

Epígrafe

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Martin Luther King)

Sumário

Resumo	15
Abstract	18
Introdução	21
1- Desenvolvimento inicial do sistema genital	22
1.1- Eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal	22
1.2- Desenvolvimento da gônada masculina	22
1.3- Desenvolvimento da gônada feminina	24
1.4- Diferenciação sexual gonadal.....	24
1.5- Desenvolvimento dos ductos mesonéfricos e paramesonéfricos	25
1.6- Diferenciação sexual hipotalâmica	29
2- Corticoterapia antenatal e seus efeitos sobre a reprogramação fetal com ênfase no sistema genital	31
2.1- Glicocorticoides e desenvolvimento fetal	31
2.2- Utilização dos glicocorticoides sintéticos durante o desenvolvimento intra- uterino	34
2.3- Efeitos gerais da corticoterapia antenatal: reprogramação fetal	34
2.4- Impacto da corticoterapia sobre o desenvolvimento do sistema genital	36
Justificativa	38
Objetivos	40
Metodologia	42
Experimento 1	45
Experimento 2	46
Experimento 3	46
Experimento 4	47
Experimento 5	47
Capítulo 1: Prenatal Exposure To Betamethasone Is Associated With Reproductive Disorders In Female Rats.....	48
Abstract	51
Introduction	52
Material and Methods	53
Results	58
Discussion	60

Acknowledgements	63
References	64
Conflict of interest statement	70
Figure legends	71
Tables	72
Figures	75
Supporting Information	80
Capítulo 2: Alterations In Male Rats Following <i>In Utero</i> Exposure To Betamethasone Suggests Changes In Reproductive Programming.....	81
Abstract	84
Introduction	85
Material and Methods	86
Results	90
Discussion	92
Acknowledgements	96
References	97
Conflict of interest statement	102
Figure legends	103
Tables	105
Figures	108
Capítulo 3: Long-Term Adverse Effects On Reproductive Function In Male Rats Exposed Prenatally To The Glucocorticoid Betamethasone.....	113
Abstract	116
Introduction	117
Material and Methods	118
Results	122
Discussion	123
Acknowledgements	126
References	127
Figure legends	131
Tables	132
Figures	137

Capítulo 4: Betamethasone Causes Intergenerational Reproductive Impairment

In Male Rats.....	142
Abstract	145
Introduction	146
Material and Methods	147
Results	154
Discussion	156
Acknowledgements	159
References	160
Conflict of interest statement	164
Figure legends	165
Tables	166
Figures	173

Capítulo 5: Prenatal Exposure To Betamethasone Has Marked And Multigenerational Effects On The Development And Structure Of The Rat Epididymis.....

Epididymis.....	180
Abstract	183
Introduction	184
Material and Methods	186
Results	189
Discussion	190
Conflict of interest statement	193
Acknowledgements	194
References	195
Figure legends	200
Figures	201
Sumário dos resultados	207
Conclusões	210
Referências bibliográficas	212
Apêndice.....	223
Comissão de Ética	224

Resumo

A betametasona é o corticosteroide de escolha para o amadurecimento pulmonar fetal diminuindo a incidência de síndrome de angústia respiratória e mortalidade neonatal. Estudos realizados em parceria com o nosso laboratório demonstraram que a exposição pré-natal a este fármaco promoveu alterações nas concentrações de testosterona e parâmetros espermáticos da prole masculina de ratos. Recentemente, efeitos sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal foram observados por gerações. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos nos parâmetros reprodutivos da prole feminina e masculina de ratos, provocados pela exposição *in utero* à betametasona. Para tanto, ratas *Wistar* prenhes foram alocadas em grupo controle (n=11) e tratado (n=13) com 0,1mg/kg de betametasona, via intramuscular, nos dias gestacionais 12, 13, 18 e 19. No experimento 1, foram avaliados: no dia pós-natal (DPN) 1 o peso inicial e a distância ano-genital da prole feminina, a partir do DPN 30, a instalação da puberdade, e a partir do DPN 70, a ciclicidade estral. No DPN 85, procedeu-se a eutanásia de uma fêmea em estro, e foram coletados uma alíquota de sangue para a determinação das concentrações hormonais e os órgãos reprodutores para pesagem. Ovário e útero foram fixados para análise histológica e morfométrica. No DPN 90 foi realizado comportamento sexual seguido de teste de fertilidade e no DPN 95 um segmento uterino de uma fêmea em estro por ninhada foi utilizado para a reatividade farmacológica. No experimento 2, foram avaliados: o consumo de ração e ganho de peso materno durante o tratamento, o peso inicial e a distância ano-genital da prole masculina no DPN 1, a instalação da puberdade a partir do DPN 30. No DPN 45 e no DPN110 procedeu-se a eutanásia de um animal de cada ninhada e foram coletados uma alíquota de sangue para a determinação das concentrações hormonais e os órgãos reprodutores para pesagem. O testículo foi fixado em Bouin e analisado para histologia, morfometria e imunohistoquímica para proteínas Cx43 e PCNA. No DPN 90, um animal de cada ninhada foi utilizado para a realização do teste de fertilidade natural. No experimento 3, dois machos da F1 foram separados e utilizados para a obtenção dos seguintes parâmetros: um animal de cada ninhada no DPN 90 foi utilizado para a realização do teste de comportamento sexual, e após 30 dias de recuperação procedeu-se a eutanásia dos animais e uma alíquota de sangue foi obtida para a determinação das concentrações hormonais e os órgãos reprodutores para pesagem. O testículo esquerdo teve a túnica albugínea removida e foi utilizado para a determinação da produção diária espermática. O epidídimo esquerdo foi utilizado para a determinação dos parâmetros espermáticos (contagem, motilidade e morfologia) assim como para o teste de fertilidade por meio da inseminação artificial *in utero*. O outro animal foi eutanasiado no DPN 120 e direcionado para os testes de reatividade farmacológica das glândulas sexuais acessórias. No experimento 4, um filhote macho de cada

ninhada da F1 foi utilizado para acasalar com fêmeas não tratadas para a obtenção da segunda geração (F2). A prole obtida da F2 foi avaliada quanto os mesmos parâmetros descritos nos experimentos 2 e 3. No experimento 5, os epidídimos direito dos animais tanto da F1 quanto da F2, no DPN 45 e 110, foram coletados e processados para histopatologia, imunomarcagem para proteína Cx43 e p63 e estereologia, e o epidídimo esquerdo para reatividade farmacológica. A exposição *in utero* à betametasona promoveu uma redução no consumo de ração e no ganho de peso materno durante o tratamento. Na prole feminina foram observados: redução do peso da ninhada ao nascimento, atraso na instalação da puberdade, redução no número de estros, aumento do peso uterino, nas concentrações de LH, comprimento do ciclo estral, na contratilidade uterina e na área do miométrio. Em contrapartida, houve uma redução nas concentrações de FSH, no quociente de lordoses, na área endometrial e na fertilidade das ratas adultas. Na prole masculina da F1, foram observados redução do peso inicial ao nascimento, atraso na instalação da puberdade, redução das concentrações de testosterona no DPN 45, aumento do peso gonadal e alteração no padrão de organização das células de Sertoli e germinativas (DPN 45 e DPN 110). A produção diária espermática foi significativamente reduzida, assim como o diâmetro dos túbulos seminíferos, além da alteração na dinâmica da espermatogênese. No epidídimo foi observado um atraso na diferenciação das células do epitélio (DPN 45), redução da densidade volumétrica do epitélio, aumento no número de espermatozoides imóveis e malformados e alteração na expressão das proteínas Cx43 e p63. O teste de contratilidade das glândulas sexuais acessórias mostrou um aumento na atividade contrátil da vesícula seminal, cujo peso absoluto foi reduzido. Os testes de fertilidade revelaram redução no potencial fértil dos animais expostos à betametasona, tanto pelo acasalamento natural quanto pela inseminação artificial *in utero*. Na F2, ocorreu um padrão similar de alterações sobre o desenvolvimento sexual da prole masculina: redução do peso ao nascimento, atraso na instalação da puberdade e aumento no peso dos testículos. Além disso, foi observada redução no peso da vesícula seminal, assim como na sua atividade contrátil. As concentrações hormonais foram reduzidas para FSH e aumentadas para LH. Foi observada redução no volume das células de Leydig, redução na produção espermática, atraso na diferenciação celular do epitélio epididimário, alteração na expressão de Cx43, e redução no número de espermatozoides móveis e normais. Houve redução da frequência ejaculatória e de fertilidade. Diante do exposto, concluiu-se que a exposição de ratos à betametasona, em períodos críticos do desenvolvimento intrauterino promoveu uma reprogramação reprodutiva multigeracional. Do ponto de vista translacional estes resultados alertam para possíveis riscos reprodutivos da exposição pré-natal aos glicocorticoides na terapia antenatal.

Abstract

Betamethasone is the glucocorticoid of choice for fetal lung maturation, reducing the incidence of respiratory distress syndrome and neonatal mortality. Studies conducted in association with our laboratory have shown that prenatal exposure to this drug promoted changes in testosterone levels and sperm parameters of male rats offspring. Recently, effects on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis were observed for generations. The aim of this study was to evaluate the effects on reproductive parameters of male and female rats, caused by *in utero* exposure to betamethasone. Therefore, pregnant *Wistar* rats were divided into control group (n=11) and treated (n=13) with 0.1mg / kg betamethasone, intramuscularly, on gestational days 12, 13, 18 and 19. In the experiment 1, it was evaluated: the initial weight and the anogenital distance at PND 1, the puberty installation from PND 30, and from PND 70 as the estrus cyclicity. On PND 85, one female was euthanized in estrus and an aliquot of blood was collected for hormone levels and the reproductive organs were weighted. Ovary and uterus were fixed for histological and morphometric analysis. In DPN 90, sexual behavior was performed followed by fertility test, and in PND 95 an uterine segment from an animal per litter was used for pharmacological reactivity. In experiment 2, it was evaluated: the maternal food intake and weight gain during treatment, the body weight and anogenital distance of male offspring on PDN 1 and the puberty installation from PND 30. In DPN 45 and DPN110 an animal per litter was euthanized and an aliquot of blood was collected to hormone levels and the reproductive organs were weighted. The right testis was fixed in Bouin and processed: histology, morphometry and immunohistochemistry for PCNA and Cx43 protein. At PND 90 one animal from each litter was used to perform natural fertility test. In experiment 3, two males of F1 were used to obtain the following parameters: an animal from each litter on PND 90 was used to perform the sexual behavior test and after 30 days of recovery, it was euthanized and an aliquot of blood was obtained for hormone levels and the reproductive organs were weighted. The left testis had its tunica albuginea removed and used to determine daily sperm production. The left epididymis was used for the determination of sperm parameters (count, motility and morphology) as well as the fertility test by *in utero* artificial insemination. The other animal was euthanized in DPN 120 for pharmacological reactivity tests of male sex glands. In experiment 4, one male pup from F1 was used to mating with untreated females to obtain the second generation (F2). The offspring obtained from F2 was evaluated for the same parameters described in the experiments 2 and 3. In Experiment 5, the right epididymis from F1 and F2 animals, on PND 45 and PND 110 were processed for histopathology, immunostaining for Cx43 and p63 protein and stereology, and the left epididymis for pharmacology reactivity test. *In utero* exposure to betamethasone

promoted a reduction in food intake and in the weight gain of mothers during the treatment. In the female pups were observed: a reduction on weight at birth, delayed on puberty onset, reduction in estrus numbers, increase in uterine weight, LH levels, estrous cycle length, uterine contractility, and area of the myometrium. In contrast, there was a reduction in FSH levels, lordosis quotient, endometrial area and fertility. In F1 male offspring, there was a reduction in the initial weight of male offspring, delayed puberty onset, low testosterone levels in PND 45, a gonadal weight increase and alteration in the pattern of Sertoli and germ cells organization on PND 45 and 110. Reduction on daily sperm production, in the diameter of the seminiferous tubules and also an alteration in the dynamics of spermatogenesis. In the epididymis, there was a delay in epithelial cells differentiation (PND 45), reduction on epithelium density volume, an increase in the number of immobile and abnormal spermatozoa and alteration in the expression of Cx43 and p63. The seminal vesicle showed a decrease in its weight and an increase in contractility activity. Fertility tests revealed reduction in the fertility potential of animals exposed to betamethasone, either by natural mating and by *in utero* artificial insemination. In F2, there was a similar pattern of changes on the sexual development of male offspring, as well as in sperm quality, characterized by reduced birth weight, delay in puberty onset and increase in weight of the testicles. Furthermore, there was a reduction in weight of the seminal vesicle, as well as their contractility activity. Hormone levels showed reduced FSH and increased LH. It was observed decrease in Leydig cells volume, reduction on sperm production, delay in the epithelial cells differentiation, alteration in the expression of Cx43 and reduction in the number of normal and mobile spermatozoa. There was a reduction in the ejaculatory frequency and fertility potential. From the foregoing, it is concluded that betamethasone exposure, in critical periods of intrauterine development in rats, promoted a reproductive multigenerational reprogramming. From the translational perspective these results warn of possible adverse reproductive outcomes of prenatal exposure to glucocorticoids in the human antenatal therapy.

Introdução

1- DESENVOLVIMENTO INICIAL DO SISTEMA GENITAL

1.1- EIXO HIPOTALÂMICO-HIPOFISÁRIO-GONADAL

A fisiologia reprodutiva em mamíferos é regulada pelo eixo hipotalâmico- hipofisário-gonadal e depende da ação do hormônio liberador de gonadotrofina – GnRH (*gonadotropin releasing hormone*) sobre seus receptores específicos na região da hipófise anterior (Wen *et al.*, 2010). Uma vez estimulada, a hipófise anterior inicia a biossíntese e liberação de hormônio luteinizante – LH (luteinizing hormone) e hormônio folículo estimulante – FSH (*follicle stimulating hormone*) que são responsáveis pelo desenvolvimento e atividade das gônadas (Manojlović-Stojanoski *et al.*, 2012).

Em ratos, cuja gestação dura em torno de 21 dias, a partir do DG 12 pode-se perceber traços de GnRH em toda a região cerebral, entretanto, as concentrações deste hormônio permanecem baixos até o DG 16, e o aumento progressivo em sua concentração a partir do DG 17, coincide com o período final da gestação (Aubert *et al.*, 1985). O mesmo pode ser observado para a hipófise, que entre os dias DG 12 a 16 apresenta fracos sítios de ligação para o GnRH, e a partir do DG 17 sua afinidade para este hormônio aumenta progressivamente o que acarreta no aumento da secreção de LH pela hipófise anterior (Aubert *et al.*, 1985).

A expressão de receptores de LH é detectada a partir do DG 15,5 e permanece constante até o DG 17,5, sendo que após o DG 18,5 o aumento progressivo na expressão destes receptores coincide com o aumento da secreção deste hormônio (Warren *et al.*, 1984).

Já a expressão de receptores de FSH, inicia-se no DG 17,5, permanece baixa até DG 19,5 e a partir do DG 20,5 aumenta a sua expressão chegando ao máximo por volta do DG 21,5. Esse aumento na expressão coincide com o início da secreção de FSH pela hipófise anterior (Warren *et al.*, 1984). Interessante perceber que apenas após o aumento nas concentrações de LH, ocorre o aumento nas concentrações de FSH, pois é o LH que modula a expressão de FSH na hipófise, e não o GnRH (Wen *et al.*, 2010).

Conclusões

Nossos resultados demonstram, neste modelo experimental, que a exposição pré-natal ao glicocorticoide betametasona promoveu efeitos adversos sobre o desenvolvimento sexual inicial, parâmetros reprodutivos e a fertilidade da prole tanto feminina quanto masculina, assim como da geração subsequente. Do ponto de vista translacional os resultados obtidos indicam que se a betametasona, embora eficaz na clínica humana como terapia antenatal, agir no organismo humano como no de roedores, pode promover reprogramação fetal, alterando padrões normais do desenvolvimento sexual, do trato genital e fertilidade dos indivíduos expostos no ambiente intrauterino.

Referências bibliográficas

- Abbott, D.E.; Pritchard, C.; Clegg, N.J.; Ferguson, C.; Dumpit, R.; Sikes, R.A.; Nelson, P.S. Expressed sequence tag profiling identifies developmental & anatomic partitioning of gene expression in the mouse prostate. *Genome Biology*, v. 4(12), pp. 79.1-79.15, 2003.
- Adams, I.R.; McLaren, A. Sexually dimorphic development of mouse primordial germ cells: switching from oogenesis to spermatogenesis. *Development*. v. 129(5), p. 1155-1164, 2002.
- Albrecht, K.H.; Eicher, E.M. Evidence that Sry is expressed in pre-Sertoli cells and Sertoli and granulosa cells have a common precursor. *Developmental Biology*. v. 240(1), p. 92-107, 2001.
- Alheira, F.V.; Brasil, M.A.A. O papel dos glicocorticoides na expressão dos sintomas de humor – uma revisão. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, v. 27 (2), p. 177-186, 2005.
- Anderson, R., Copeland, T.K., Scholer, H., Heasman, J., Wylie, C. The onset of germ cell migration in the mouse embryo. *Mech Dev*, v. 91, p. 61–68, 2000.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária - [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[26517-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[26517-1-0].PDF), 2008 - <acessado em 19/11/2012>
- Aubert, M.L.; Begeot, M.; Winiger, B.P.; Morel, G.; Sizonenko, P.C.; Dubois, P.M. Ontogeny of Hypothalamic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (Gnrh) and Pituitary Gnrh Receptors in Fetal and Neonatal Rats. *Endocrinology*. v. 116, p. 1565-1576, 1985.
- B. Robaire & B.T. Hinton eds. *The Epididymis: from molecules to clinical practice*, pp.389-403, 2002.
- Barker, D.J., Thornburg, K.L. Placental programming of chronic diseases, cancer and lifespan: a review. *Placenta*, v. 34, p. 841–845, 2013.
- Barker, D.J.P. *In utero* programming of chronic disease. *Clinical Science*, v. 95, p. 115–128, 1998.
- Bedford, J.M. Changes in fine structure of the rabbit sperm head during passage through the epididymis. *Journal of anatomy*, v. 99 (4), p. 891-906, 1965.
- Belanoff, J.K.; Gross, K.; Yager, A.; Schatzberg, A.F. Corticosteroids and cognition. *Journal of Psychiatric Research*, v. 35, p. 127-145, 2001.
- Bertram, C.E.; Hanson, M.A. Prenatal programming of postnatal endocrine responses by glucocorticoids, *Reproduction*, v. 124(4), p. 459-67, 2002.
- Beverley, E; Murphy, P. Steroids and Depression. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 38(5), p. 537-559, 1991.

- Bhandari, R.K.; Schinke, E.N.; Haque, M.M.; Sadler-Riggleman, I.; Skinner, M.K. SRY Induced TCF21 Genome-Wide Targets and Cascade of bHLH Factors During Sertoli Cell Differentiation and Male Sex Determination in Rats. *Biology of reproduction*, v. 87(6), p. 1–14 (131), 2012.
- Bi, J., Contag, S.A., Chen, K., Su, Y., Figueroa, J.P., Chappell, M.C., Rose, J.C. Sexspecific effect of antenatal betamethasone exposure on renal oxidative stress induced by angiotensins in adult sheep. *American Journal of Physiology: Renal Physiology*. v. 307, p.1013–1022, 2014.
- Braun, T., Sloboda, D.M., Tutschek, B., Harder, T., Challis, J.R., Dudenhausen, J.W., Plagemann, A., Henrich, W. Fetal and neonatal outcomes after term and preterm delivery following betamethasone administration. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. v. 130, p. 64–69, 2015.
- Buehr, M.; Gu, S.; McLaren, A. Mesonephric contribution to testis differentiation in the fetal mouse. *Development*. v. 117(1), p. 273- 281, 1993.
- Bullejos, M., Koopman, P. Germ cells enter meiosis in a rostro-caudal wave during development of the mouse ovary. *Mol Reprod Dev*, v. 68, p.422– 428, 2004.
- Buttgereit, F.; Burmester, G.R.; Brand, M.D. Bioenergetics of immune functions: fundamental and therapeutic aspects. *Immunology Today*, v. 21(4), p. 192-199, 2000.
- Capel, B.; Albrecht, K.H.; Washburn, L.L.; Eicher, E.M. Migration of mesonephric cells into the mammalian gonad depends on Sry. *Mechanisms of Development*, v. 84(1-2), p. 127-131, 1999.
- Corbier, P.; Edwards, D.A.; Roffi, J. The neonatal testosterone surge: a comparative study. *Archives Internationales De Physiologie, De Biochimie Et De Biophysique*, v. 100(2), p. 127-131, 1992.
- Crowley, P.A. Antenatal corticosteroid therapy: A meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, v. 173, p. 322-335, 1995.
- Crudo, A.; Petropoulos, S.; Moisiadis, V.G.; Iqbal, M.; Kostaki, A.; Machnes, Z.; Szyf, M.; Matthews, S.G. Prenatal Synthetic Glucocorticoid Treatment Changes DNA Methylation States in Male Organ Systems: Multigenerational Effects. *Endocrinology*, v. 153(7), p. 3269-3283, 2012.
- Cuasnicú, P.S. et. al. Changes in specific sperm proteins during epididymal maturation. In: eds. *The Epididymis – From Molecules to Clinical Practice*. Kluwer Academic / Plenum Publisher: New York, pp. 81-102, 2002.

- Cunha, G.R., Ricke, W., Thomson, A., Marker, P.C., Risbridger, G., Hayward, S.W., Wang, Y.Z., Donjacour, A.A. and Kurita, T. Hormonal, cellular, and molecular regulation of normal and neoplastic prostatic development. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 92, p.221–236, 2004.
- Cupp, A.S., Skinner, M.K. Embryonic Sertoli Cell Differentiation, *In: M.K.a.G. Skinner, M.D. (Ed.), Sertoli Cell Biology*, Elsevier Science, pp. 43 – 70, 2005.
- Domeniconi, R. F., Souza, A. C., Xu, B., Washington, A. M., Hinton, B. T. Is the Epididymis a Series of Organs Placed Side by Side? *Biology of reproduction*, v. 95(1), p. 10, 2016.
- Drake, A.J. Liu, L.; Kerrigan, D.; Meehan, R.R.; Seckl, J.R. Multigenerational programming in the glucocorticoid programmed rat is associated with generation-specific and parent of origin effects. *Epigenetics*, v. 6 (11), p. 1334-1343, 2011.
- Drake, A.J.; Walker, B.R.; Seckl, J.R. Intergenerational consequences of fetal programming by *in utero* exposure to glucocorticoids in rats. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, v. 288, p. R34–R38, 2004.
- Durlinger, A.L., Visser, J.A., Themmen, A.P. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction*. v. 124(5), p. 601-609, 2002.
- Epifano, O., Dean, J. Genetic control of early folliculogenesis in mice. *Trends Endocrinol Metabol*, v. 13, p. 169–173, 2002.
- Fernandez, C.D.; Porto, E.M.; Arena, A.C.; Kepinas, W.G. Effects of altered epididymal sperm transit time on sperm quality. *International journal of andrology*, v. 31(4), pp. 427-437, 2008.
- Flickinger, C.J. The fine structure and development of the seminal vesicles and prostate in the fetal rat. *Z Zeitschrift Fur Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, v. 109(1), p.1-14, 1970.
- Fowden, A.L.; Forhead, A.J. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction*, v. 127, p. 515-526, 2004.
- Gayrard, V.; Alvinerie, M.; Toutain, P.L. Interspecies Variations of Corticosteroid- Binding Globulin Parameters. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 13, p. 35-45, 1996.
- Ginsburg, M.; Snow, M.H.L.; McLaren, A. Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation. *Development*, v. 110, p. 521-528, 1990.
- Gogan, F.; Slama, A. Bizzini-Koutznetzova, B.; Kordon, C. Importance of perinatal testosterone in sexual differentiation in the male rat. *Journal of Endocrinology*, v. 91(1), p. 75-79, 1981.

- Gore, A.C.; Attardi, B.; DeFranco, D.B. Glucocorticoid Repression of the Reproductive Axis: Effects on GnRH and Gonadotropin Subunit mRNA Levels. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 256, p. 40-48, 2006.
- Grive, K.J., Freiman, R.N. The developmental origins of the mammalian ovarian reserve. *Development*, v. 142(15), p. 2554-2563, 2015.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. *Tratado de fisiologia médica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. pp. 1115, 2006.
- Guzmán, C.; Zambrano, E. Endocrine disruptor compounds and their role in the developmental programming of the reproductive axis. *Rev Invest Clin*, v.59(1), p.73-81, 2007.
- Hardy, M.P.; Gao, H.B.; Dong, Q.; Ge, R.; Wang, Q.; Chai, W.R.; Feng, X.; Sottas, C. Stress hormone and male reproductive function. *Cell and Tissue Research*, v. 322, p. 147153, 2005.
- Hayashi, N., Sugimura, Y., Kawamura, J., Donjacour, A.A., Cunha, G.R. Morphological and functional heterogeneity in the rat prostatic gland. *Biology of Reproduction*, v. 45(2), p. 308-321, 1991.
- Hayward, S.W., Baskin, L.S., Haughney, P.C., Cunha, A.R., Foster, B.A., Dahiya, R., Prins, G.S., Cunha, G.R. Epithelial development in the rat ventral prostate, anterior prostate and seminal vesicle. *Acta Anatomica (Basel)*, v. 155(2), p. 81-93, 1996.
- Hermo, L., Barin, K., Robaire, B. Structural Differentiation of the Epithelial Cells of the Testicular Excurrent Duct System of Rats During Postnatal Development. *The Anatomical record*, v. 233(2), p. 205-228, 1992.
- Hermo, L.R.B. Epididymal cell types and their functions. *In: Robaire, H.B.; Hinton, B.T., Kluwer Academic/Plenum Publisher: New York. pp. 251-267, 2002.*
- Hinton, B. T., Galdamez, M. M., Sutherland, A., Bomgardner, D., Xu, B., Abdel-Fattah, R., Yang, L. How Do You Get Six Meters of Epididymis inside a Human Scrotum? *Journal of Andrology*, v. 32(6), p. 558-564, 2011.
- Hinton, B.T., Palladino, M.A., Rudolph, D., Labus, J.C. The epididymis as protector of maturing spermatozoa. *Reproduction Fertility and Development*, v. 7(4), p. 731-745, 1995.
- Iqbal, M.; Moisiadis, v.G.; Kostaki, A.; Matthews, S.G. Transgenerational Effects of Prenatal Synthetic Glucocorticoids on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Function. *Endocrinology*, v. 153(7), p.3295–3307, 2012.

- Jobe, A.H.; Soll, R.F. Choice and dose of corticosteroid for antenatal treatments. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* v. 190, p. 878-881, 2004.
- Josso, N.; Clemente, N.; Gouédard, L. Anti-Müllerian hormone and its receptors. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 179, p. 25–32, 2001.
- Juraska, J.M.; Sisk, C.L.; DonCarlos, L.L. Sexual differentiation of the adolescent rodent brain: hormonal influences and developmental mechanisms. *Horm Behav*, v. 64(2), p. 203-210, 2013.
- Kempinas, W.D.G.; Klinefelter, G.R. The Epididymis as a Target for Toxicants. In: *Comprehensive Toxicology*. v. 11, pp. 149-166, 2010.
- Kempinas, W.D.G. and Klinefelter, G.R.. Interpreting histopathology in the epididymis. *Spermatogenesis*. v. 4(2), p. e979114, 2014.
- Kierszenbaum, A.L. Transporte e maturação de espermatozoides. In: __. *Histologia e Biologia Celular*. Rio de Janeiro: Elsevier, pp. 601-639, 2008.
- Kinbara, H. and Cunha, G.R. Ductal heterogeneity in rat dorsal-lateral prostate. *Prostate*, v. 28(1), p. 58-64, 1996.
- Klinefelter, G.R.; Hess, R.A. Toxicology of the Male Excurrent Ducts and Accessory Sex Glands. In: Korach K.S. eds. *Reproductive and Developmental Toxicology*. pp. 553- 592, 1998.
- Levine, E.; Cupp, A.S.; Miyashiro, L.; Skinner, M.K. Role of transforming growth factor- α and the epidermal growth factor receptor in embryonic rat testis development. *Biology of Reproduction*, v. 62(3), p. 477-490, 2000.
- Manojlovic'-Stojanoski, M., Nestorovic', N., Milošević, V. Prenatal glucocorticoids: short-term benefits and long-term risks. In: Qian, X. (Ed.), *Glucocorticoids—New Recognition of Our Familiar Friend*, 2012.
- Marker, P.C., Dahiya, R., Cunha, G.R. Spontaneous mutation in mice provides new insight into the genetic mechanisms that pattern the seminal vesicles and prostate gland. *Developmental Dynamics*. v. 226(4), p.643-653, 2003.
- Martignoni, E.; Costa, A.; Sinfioriani, E.; Liuzzi, A.; Chiodini, P.; Mauri, M.; Bono, G.; Nappi, G.P. The brain as a target for adrenocortical steroids: cognitive implications. *Psychoneuroendocrinology*, v.17(4), p. 343–354, 1992.
- Marty, M. S., Chapin, R. E., Parks, L. G., Thorsrud, B. A. Development and Maturation of the Male Reproductive System. *Birth defects research. Part B, Developmental and reproductive toxicology* v. 68(2), p. 125-136, 2003.

- Matthews, S.G. Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS. *Pediatric Research.*, v. 47, p. 291-300, 2000.
- Mcphaul, M.J. The biology of the male reproductive Tract. In: Korach K.S. eds. *Reproductive and Developmental Toxicology*. pp. 475-508, 1998.
- Miles, D.C., van den Bergen, J.A., Sinclair, A., Western, P.S. Regulation of the female mouse germ cell cycle during entry into meiosis. *Cell Cycle*, v. 9, p. 408–418, 2010.
- Moisiadis, V.G., Matthews, S.G. Glucocorticoids and fetal programming part 1: outcomes. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 10, p. 391–402, 2014.
- Murashima, A., Xu, B. , Hinton, B. T. Understanding Normal and Abnormal Development of the Wolffian/Epididymal Duct by Using Transgenic Mice. *Asian Journal of Andrology*, v. 17(5), p. 749-755, 2015.
- Nijman, T.A.; Van-Vliet, E.O.; Koullali, B.; Mol, B.W.; Oudijk, M.A. Antepartum and intrapartum interventions to prevent preterm birth and its sequelae. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, v. 21(2), p. 121-128, 2016.
- Nugent, B.M.; Wright, C.L.; Shetty, A.C.; Hodes, G.E.; Lenz, K.M.; Mahurkar, A.; Russo, S.J.; Devine, S.E.; McCarthy, M.M. Brain feminization requires active repression of masculinization via DNA methylation. *Nat Neurosci*, v. 18(5), p. 690-697, 2015.
- Orgebin-Crist, M.C.; Jahad, N. The maturation of rabbit epididymal spermatozoa in organ culture: inhibition by antiandrogens and inhibitors of ribonucleic acid and protein synthesis. *Endocrinology*, v. 103, pp. 46-53, 1978.
- Page, K.C.; Sottas, C.M.; Hardy, M.P. Prenatal Exposure to Dexamethasone Alters Leydig Cell Steroidogenic Capacity in Immature and Adult Rats. *Journal of Andrology*, v. 22(6), p. 973-980, 2001.
- Parker, K., Schimmer, B.P. Embryology and Genetics of the Mammalian Gonads and Ducts. In: N. JD, ed. *Knobil & Neill's Physiology of Reproduction*. Elsevier. pp. 313- 336, 2006.
- Pedrana, G., Sloboda, D.M., Perez, W., Newnham, J.P., Bielli, A., Martin, G.B. Effects of pre-natal glucocorticoids on testicular development in sheep. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v. 37, p. 352–358, 2008.
- Pereira, O.C.M.; Arena, A.C.; Yasuhara, F.; Kempinas, W.G. Effects of prenatal hydrocortisone acetate exposure on fertility and sexual behavior in male rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 38, p. 36-42, 2003a.
- Pereira, O.C.M.; Piffer, R.C. Puberty installation and adrenergic response of seminal vesicle from rats exposed prenatally to hydrocortisone. *Life Sciences*, v. 77, p. 1381-1390, 2005.

- Piffer, R.C.; Garcia, P.C.; Gerardin, D.C.C.; Kempinas, W.G.; Pereira, O.C.M. Semen parameters, fertility and testosterone levels in male rats exposed prenatally to betamethasone. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 21, p. 634-639, 2009a
- Piffer, R.C.; Garcia, P.C.; Pereira, O.C.M. Adult partner preference and sexual behavior of male rats exposed prenatally to betamethasone. *Physiology & Behavior*, v. 98, p. 163-167, 2009b.
- Price, D. Normal development of the prostate and seminal vesicles of the rat with a study of experimental postnatal modifications. *Developmental Dynamics*, v. 60(1), p. 79–127, 1936.
- Prins, G.S., Huang, L., Birch, L., Pu, Y. The role of estrogens in normal and abnormal development of the prostate gland. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1089, p.1-13, 2006.
- Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; Moore, P.K. A hipófise e o cortex da supra-renal. In: *Farmacologia (ed. Elsevier)*, p. 470-479, 2004.
- Rayburn, W.F.; Christensen, H.D.; Gonzalez, C.L. A placebo-controlled comparison between betamethasone and dexamethasone for fetal maturation: Differences in neurobehavioral development of mice offspring. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, v. 176, p. 842-851, 1997.
- Reznikov, A.G.; Nosenko, N.D.; Tarasenko, L.V.; Limareva, A.A. Changes In The Brain Testosterone Metabolism And Sexual Behavior In Male Rats Prenatally Exposed To Methyldopa And Stress. *Fiziol Zh*, v. 61(4), p.41-47, 2015.
- Ricke, W.A., Wang, Y., Cunha, G.R. Steroid hormones and carcinogenesis of the prostate: the role of estrogens. *Differentiation*. v.75(9), p. 871-882, 2007.
- Rimon-Dahari, N., Yerushalmi-Heinemann, L., Alyagor, L., Dekel, N. Ovarian Folliculogenesis. In: R.P. Piprek (ed.), *Molecular Mechanisms of Cell Differentiation in Gonad Development, Results and Problems in Cell Differentiation*, v. 58, pp. 167-190, 2016.
- Risbridger, G.P.; Taylor, R. Physiology of the Male Accessory Sex Structures: The Prostate Gland, Seminal Vesicles, and Bubourethral Glands., In: N. JD, ed. *Knobil & Neill's Physiology of Reproduction*. Elsevier. pp. 1149- 1172, 2006.
- Robaire, B.H.B.; Orgebin-Crist, M.C.; The epididymis. In: Neill JD ed. *Knobil & Neill's Physiology of Reproduction*. Elsevier, pp. 1071- 1148, 2006.

- Roberts, L. M., Hirokawa, Y., Nachtigal, M. W., Ingraham, H. A. Paracrine-Mediated Apoptosis in Reproductive Tract Development. *Developmental biology*, v. 208(1), p. 110-122, 1999.
- Rodriguez, C.M.; Kirby, J. L.; Hinton, B.T. The development of the epididymis., *In: Robaire B & Hinton, B.T. eds. The Epididymis – From Molecules to Clinical Practice.*
- Sadiq, H.F.; Devaskar, U.P. Glucocorticoid Increase Pulmonary Epidermal Growth Factor Receptors In Female And Male Fetal Rabbit. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. v. 119 (1), p. 408-414, 1984.
- Samtini, M.N.; Lohle, M.; Grant, A.; Nathanielsz, P.W.; Jusko, W.J. Betamethasone Pharmacokinetics after two prodrug formulations in sheep: implications for antenatal corticosteroid use. *Drug Metabolism and Disposition*, v. 33, p. 1124-1130, 2005. et al., 2005.
- Sapolsky, R.M.; Romero, L.M.; Munck, A.U. How do glucocorticoids influence stress response? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, v. 21, p. 55-89, 2000.
- Schmahl, J.; Eicher, E.M.; Washburn, L.L.; Capel, B. Sry induces cell proliferation in the mouse gonad. *Development*. v. 127(1), p. 65-73, 2000.
- Schwarz, J.; McCarthy, M.M. Steroid-induced sexual differentiation of the developing brain: multiple pathways, one goal. *Journal of Neurochemistry*. v. 105(5), p. 1561–1572, 2008.
- Seckl, J.R. Glucocorticoids, foeto-placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2, and the early life origins of adult disease. *Steroids*, v.62(1), p.89-94, 1997.
- Sharpe, R.M.; McKinnell, C.; Kivlin, C.; Fisher, J.S. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction*, v. 125, p. 769–784, 2003.
- Shaw, A., Attia, S., Bushman, W. Prostate stromal and urogenital sinus mesenchymal cell lines for investigations of stromal-epithelial interactions. *Differentiation*. v.76(6), p. 599-605, 2008.
- Souza, E.; Kobayashi, S.; Simões, M.J.; Camano, L.; Kulay-Junior, L. Effect of betamethasone on Pregnant Rats: Impact on Corticosterone Level and Maternal and Fetal Adrenal Glands. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 23(10), 2001.
- Staack, A., Donjacour, A.A., Brody, J., Cunha, G.R., Carroll, P. Mouse urogenital development: a practical approach. *Differentiation*, v. 71, p.402–413, 2003.
- Sugimura, Y., Cunha, G.R., Donjacour, A.A. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. *Biology of Reproduction*, v. 34(5), p.961-971, 1986.

- Sun, E.L., and Flickinger, C.J. Development of cells types and of regional differences in the postnatal rats epididymis: a steriological study. *American Journal of Anatomy*, v. 154, p. 27-55, 1979.
- Suzuki, F. and Nagano, T. Development of tight junctions in the caput epididymal epithelium of the mouse. *Developmental Biology*, v. 63, p. 321-334, 1978.
- Suzuki, H. Kanai-Azuma, M., Kanai, Y. From Sex Determination to Initial Folliculogenesis in Mammalian Ovaries: Morphogenetic Waves along the Anteroposterior and Dorsoventral Axes. *Sex Dev*, v. 9, p. 190–204, 2015.
- Svechnikov, K.; Stukenborg, J.B.; Savchuck, I.; Söder, O. Similar causes of various reproductive disorders in early life. *Asian J Androl*, v. 16(1), p. 50-59, 2014.
- Thompson, T.C., Cunha, G.R., Shannon, J.M., Chung, L.W. Androgen-induced biochemical responses in epithelium lacking androgen receptors: characterization of androgen receptors in the mesenchymal derivative of urogenital sinus. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 25, p. 627–634, 1986.
- Timms, B.G., Mohs, T.J., Didio, L.J. Ductal budding and branching patterns in the developing prostate. *Journal of Urology*, v. 151(5), p.1427-1432, 1994.
- Tsuji, M., Shima, H., Yonemura, C.Y., Brody, J., Donahoe, P.K., Cunha, G.R. Effect of human recombinant mullerian inhibiting substance on isolated epithelial and mesenchymal cells during mullerian duct regression in the rat. *Endocrinology*, v. 131(3), p. 1481-1488, 1992.
- Ward, I.L., Weisz, J. Differential-effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers. *Endocrinology*, v. 114, p. 1635–1644, 1984.
- Warren, D.W.; Huhtaniemi, I.T.; Tapanainen, J.; Dufau, M.L.; Catt, K.J. Ontogeny of gonadotropin receptors in the fetal and neonatal rat testis. *Endocrinology*, v. 114(2), p. 470-476, 1984.
- Wen, Q.; Cheng, C.Y.; Liu, Y.X. Development, function and fate of fetal Leydig cells. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, v. 16, p. 30067-2, 2016.
- Wen, S.; Ai, W.; Alim, Z.; Boehm, U. Embryonic gonadotropin-releasing hormone signaling is necessary for maturation of the male reproductive axis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 107(37), p. 16372–16377, 2010.
- Windley, S.P., Wilhelm, D. Signaling Pathways Involved in Mammalian Sex Determination and Gonad Development. *Sex Dev*, v. 9, p. 297–315, 2015.

- Wolkowitz, O.M.; Reus, V.I. Treatment of depression with antigluocorticoid drugs. *Psychosomatic Medicine*, v.61, p. 698- 711, 1999.
- Yao, H.H., DiNapoli, L., Capel, B. Meiotic germ cells antagonize mesonephric cell migration and testis cord formation in mouse gonads. *Development*, v. 130, p. 5895–5902, 2003
- Yao, H.H.C. and Barsoum, I. Fetal Leydig Cells, *In: A.H. Payne and M.P. Hardy (Ed.), Contemporary Endocrinology: The Leydig Cell in Health and Disease*, Humana Press Inc., Totowa, pp. 47-70, 2007.
- Yazawa, H.; Sasagawa, I.; Nakada, T. Apoptosis of testicular germ cells induced by exogenous glucocorticoid in rats. *Human Reproduction*, v. 15(9), p. 1917-1920, 2000.
- You, L. and Sar, M. Androgen Receptor Expression in the Testes and Epididymides of Prenatal and Postnatal Sprague-Dawley Rats. *Endocrine*, v. 9(3), p.253-261, 1998.