

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 01/09/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**IDENTIFICAÇÃO DE ALVOS ONCOGÊNICOS NA
PRÓSTATA DE RATOS EXPOSTOS A MISTURAS DE
FTALATOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO
PERINATAL: ESTUDO TRANSGERACIONAL**

MSc. Ariana Musa de Aquino

Prof. titular Wellerson Rodrigo Scarano

Tese apresentada ao Instituto de Biotecnologia campus de Botucatu, UNESP, como requisito obrigatório para obtenção do título de Doutora pelo programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

Dr. Wellerson Rodrigo Scarano

BOTUCATU – SP

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**IDENTIFICAÇÃO DE ALVOS ONCOGÊNICOS NA
PRÓSTATA DE RATOS EXPOSTOS A MISTURAS DE
FTALATOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO
PERINATAL: ESTUDO TRANSGERACIONAL**

MSc. Ariana Musa de Aquino

Prof. titular Wellerson Rodrigo Scarano

Prof. Assoc. Luis Antônio Justulin Júnior

Tese apresentada ao Instituto de Biociências campus de Botucatu, UNESP, como requisito obrigatório para obtenção do título de Doutora pelo programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

Dr. Wellerson Rodrigo Scarano

**BOTUCATU – SP
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Aquino, Ariana Musa de.

Identificação de alvos oncogênicos na próstata de ratos expostos a misturas de ftalatos durante o desenvolvimento perinatal : estudo transgeracional / Ariana Musa de Aquino. - Botucatu, 2023

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

Orientador: Wellerson Rodrigo Scarano

Coorientador: Luis Antonio Justulin Júnior

Capes: 20601000

1. Disruptores Endócrinos. 2. Hereditariedade. 3. Exposição materna. 4. Plastificantes. 5. Carcinógenos.

Palavras-chave: Desregulador endócrino; Efeitos transgeracionais; Exposição materna; Ftalatos; Repercussões tardia.

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu pai, Claudionor Ferreira de Aquino e a minha irmã, Flávia Musa de Aquino. Ambos foram e são a principal razão de todas as minhas conquistas. Vocês são as pessoas mais importantes da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Não posso começar esta seção sem agradecer primeiramente a Deus por me permitir chegar com saúde e muita determinação até aqui.

Em segundo lugar, agradeço meu pai, Claudionor Ferreira de Aquino, por todo incentivo e dedicação em toda a minha trajetória. Pai, obrigada por me mostrar, desde cedo, que com a minha coragem eu poderia conquistar o mundo. Você é e sempre será a minha fonte de inspiração, meu herói sem capas, meu porto seguro e minha principal referência na vida. Pai, “Se eu tivesse a força que você pensa que eu tenho, eu gravaria no metal da minha pele o teu desenho”.

A minha irmã Flávia Musa de Aquino, por todo apoio, carinho e por cuidar da pessoa mais importante das nossas vidas enquanto eu estive ausente.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação e me transformaram de alguma forma (desde o primeiro, ainda no ensino básico, até o último). Professores, obrigada por transformarem vidas através da educação.

Á cada uma das pessoas que, ao longo da minha curta vida, tive o prazer de conhecer, compartilhar momentos, trocar experiências e aprender muito. Acredito que cada encontro tem um propósito. Sou privilegiada por ter encontrado pessoas especiais em cada etapa da minha vida.

A todos meus amigos que, mesmo longe, tiveram o cuidado de zelar por mim durante esse meu doutorado. Em especial a Marília, Cariny, Diego, Theodoro, Thaís e Luisa. Hoje posso dizer que tenho morada em outros corações, porque carrego cada um de vocês comigo. Obrigado por estruturarem a minha base, é isso que me motiva a seguir em frente.

À Profa. Dra. Andrea do Amarante Paffaro por me mostrar o caminho da ciência e por me ensinar tanto. Andrea, você não sabe o carinho imenso que tenho por você. Obrigada por plantar e regar essa semente que vai florescendo aos poucos. Você sempre será uma referência importante para mim.

Não tenho palavras para expressar a gratidão e o carinho que tenho pelo professor e meu orientador Dr. Wellerson Rodrigo Scarano. Obrigada por me permitir crescer tanto durante a minha trajetória nesse período. Obrigada por cada minuto do seu tempo, pelos ensinamentos, pelo apoio nas minhas loucuras, por não surtar com os meus surtos, pelos encontros descontraídos e pela relação que construímos ao longo deste tempo. Amadureci muito com vocês e espero poder lhe retribuir.

Aos amigos que a UNESP-Botucatu me deu. Vocês foram e são essenciais para este título. Especialmente, Nilton, Isabela, Sérgio Alexandre, Ana Carolina, Bruno, Cecília, Luiz

Marcos, Matheus, Maira, Helga, Carol, Jéssica, Franciele, Bruna, Cristiane, André, Leonardo, Giovana, Larissa, Verônyca, Maysa e TODOS os outros que tive o prazer de compartilhar momentos tão especiais. Pessoal, obrigada por todos os almoços, por todas os dias de ensinamento e por todos os encontros marcantes. Á todos vocês, obrigada por tornarem meus dias mais leves e essa jornada mais prazerosa.

Aos meus colegas/amigos de laboratório Vanessa, Luisa, Natália e Patrick. Pessoal, obrigado por me permitir compartilhar um pouco do que meu conhecimento com vocês e por contribuírem para minha formação profissional e pessoal. Obrigado pelos encontros e por todos os ensinamentos que está relação me trouxe. Espero ter contribuído para a formação de vocês “um cadinho só”.

Aos meus colegas de pós-graduação pelos momentos de apoio, descontração, trocas e crescimento mútuo. Espero que todos vocês estejam bem e conquistando seus sonhos.

A PG-BGA por me permitir conquistar esse sonho, por me permitir ser representante dos alunos por dois mandatos, os quais tive o prazer de conhecer e aprender sobre as diferentes problemáticas que envolvem a gestão da PG e, por todo o apoio durante a minha formação. Obrigada a todos os membros do programa, do conselho e a todos os professores que contribuíram para minha formação profissional.

Aos professores e técnicos do departamento de Biologia Estrutural e Funcional do Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu (IBB/UNESP). Especialmente aos meus colaboradores diretos o prof. titular Luis Fernando Barbisan e o prof. associado Luiz Antônio Justulin Jr por disponibilizarem o laboratório em todas as vezes que precisei, por contribuírem para a minha formação e para a qualidade do nosso grupo.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao IBB/UNESP por ter estrutura e profissionais extremamente qualificados para formar novos pesquisadores, professores e profissionais das diferentes áreas. Obrigada por ser minha casa nestes 6 anos IBB/Setor Morfologia. Assim como na PG-BGA, tive o prazer de ser representante discente da CONGREGAÇÃO e do conselho departamental do setor morfologia. Tenham certeza de que essas experiências foram de extrema relevância para mim.

As agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 0001 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por acreditarem, incentivarem e investirem na qualidade da pesquisa científica nacional e pela minha bolsa de pesquisa (processo: 2019/13823) e pelo financiamento dos processos 17/08306-2, 18/50002-3, que geraram dados usados nesta tese. A FAPESP agradeço imensamente pela oportunidade que tive de realizar uma das experiências mais incríveis e enriquecedoras da minha vida, que foi o meu projeto de Bolsa de Estágio Pesquisa no Exterior (BEPE) – processo: 2021/06617-6.

Ao prof. Dr. Jörn Dengjel pela oportunidade incrível que tive de conhecer e trabalhar no seu laboratório. Jörn, muito obrigada pela confiança, apoio e por todos os momentos

que você se disponibilizou a contribuir para a qualidade da minha pesquisa e formação. Estendo esses agradecimentos a todo o grupo de pesquisa do Dengjel Lab.

A Universidade de Fribourg, Suíça (Unifr) e ao departamento de Biologia da Unifr por me receber para o meu intercâmbio e por me oferecer ensino e recursos de altíssima qualidade, que contribuíram muito para o meu crescimento acadêmico e profissional.

Aos amigos Douve Frediane, Christelle Brumann, Afonso Godoy, Мария Maloshtan, Fátima Aitmalek, Caroline Wilking, Anne de Lambertye, Camille Liederman, Maria Tardic, Sofia Alfero, Matthias Brandt, Diana Vazquez, Laura Beignet e aos amigos do Foyer Salve Regina, Fribourg-Suíça. Obrigado por serem meu abrigo, por me engordarem com todos os chocolates, queijos e cafés. Obrigado por me mostrarem que vale a pena se permitir, viver novas experiências e construir novos laços.

Aos professores Pedro Fontes Oliveira da Universidade de Aveiro, Portugal e Marco G Alves, da Universidade de Porto, Portugal e seus respectivos grupos de pesquisa pela oportunidade de conhecer os laboratórios e suas linhas de pesquisas no tempo em que estive visitando os laboratórios em Portugal.

A professora e pesquisadora Jodie A. Flaws, da universidade de Illinois, EUA, pela colaboração direta no desenvolvimento e finalização do meu projeto de doutorado e pelas colaborações nos artigos científicos.

A professora Graziela e Rosiane por me indicarem para a coordenação do grupo DOHaD Brasil Jovem. Estendo os agradecimentos a todos os integrantes do grupo DOHaD Brasil Jovem (2021-2023) pela confiança e disponibilidade.

Aos professores e doutores Débora Cristina Damasceno, Luis Fernando Barbizan e Sérgio Alexandre pela avaliação da Pré-tese e pelo tempo dedicado em contribuir para a melhoria desta pesquisa.

Aos professores e doutores Marco, Paula, Leonardo e Andrea por aceitarem avaliar esse material. Fiquei muito feliz com o aceite e temos certeza de que vocês trarão pontos relevantes para melhorar e agregar valor à minha tese. Aproveito a oportunidade para agradecer os membros suplentes que confirmaram disponibilidade em eventual necessidade.

*Finalizo destacando que ninguém chega a lugar nenhum sozinho. A todos vocês...
MUITO OBRIGADO!*

Resumo

Os ftalatos correspondem a um grupo de plastificantes comercialmente utilizados em diferentes meios de produção com maior ou menor risco de exposição a depender do material ao qual estão empregados. Por outro lado, os ftalatos são facilmente liberadas para o meio ambiente, porque não formam ligação covalente. Os estudos que avaliam exposição precoce aos ftalatos, são focados na exposição isolada ou associada a outras diferentes substâncias que atuam como Desreguladores Endócrinos (DEs). Este estudo buscou investigar o efeito da exposição a um conjunto de ftalatos para mimetizar a exposição ambiental e avaliar o efeito da exposição. Além disso, estudos recentes apontam que metabólitos de ftalatos são detectados em amostras de urina de mulheres em idade reprodutiva, gestantes e crianças nas diferentes fases do desenvolvimento, o que comprova a exposição precoce a um conjunto de ftalatos. Paralelamente, estudos avaliando as janelas de susceptibilidade apontam que a exposição aos ftalatos está associada as desordens reprodutivas masculina e feminina, bem como as doenças do indivíduo adulto e senil. Na próstata, o efeito está associado a prejuízos na morfofisiologia da glândula, aumento de stress e inflamação, criado por um microambiente reativo e, maior vulnerabilidade do tecido para alterações relacionadas as patologias prostáticas, que acometem homens em idade reprodutivas e homens senis. Neste sentido, este estudo buscou investigar a influência da exposição materna em períodos cruciais para o desenvolvimento e amadurecimento da glândula prostática, na modulação de mecanismos pós-transcricionais (miRNAs and mRNAs), na atividade funcional do tecido (proteoma), bem como na contribuição destas modulações para a origem do câncer de próstata. Ainda, esta investigação focou na transmissão das alterações possivelmente transmitidas para as próximas gerações, buscando estabelecer se a repercussão tardia da exposição é observada na descendência (F1) e na geração (F2). Para atingir tal objetivo, ratas prenhes da linhagem Sprague Dawley foram distribuídas em 4 grupos experimentais: Grupo controle (controle; veículo); 20µg/kg/dia, 200µg/kg/dia e 200mg/kg/dia que receberam o tratamento com a mistura de ftalatos do dia gestacional 10 (DG10) ao dia pós-natal 21 (DPN21), via gavagem. O

grupo exposto 200µg/kg/dia foi avaliado somente para obter o perfil de expressão gênica, para as demais análises e comparação, o grupo foi desconsiderado. Ao final do delineamento experimental, os filhotes foram analisados em 4 checkpoint: no DPN22(F1) para analisar as consequências da exposição materna direta; no DPN120 para avaliar as repercussões tardias; no DPN540 para analisar as consequências da exposição na vida senil, para as análises histopatológicas, e no DPN22, para investigar o efeito transgeracional nos descendentes de pais expostos (F2). A próstata ventral foi coletada ao final de cada checkpoint, para as análises moleculares. Os resultados obtidos nesta investigação estão apresentados no formato de capítulo no decorrer da tese. Cabe ressaltar que dois artigos apresentados nesta tese estão publicados em periódicos científicos da área.

Abstract

Phthalates correspond to a group of plasticizers commercially used in different production environments, with a greater or lesser risk of exposure depending on the material they are used in. On the other hand, phthalates are easily released into the environment because they do not form covalent bonds. Studies evaluating early exposure to phthalates are focused on exposure in isolation or in association with other different substances that act as Endocrine Disruptors (EDs). This study sought to investigate the effect of exposure to a set of phthalates to mimic environmental exposure and evaluate the effect of exposure. In addition, recent studies indicate that phthalate metabolites are detected in urine samples from women of reproductive age, pregnant women, and children at different stages of development, which proves the early exposure to a set of phthalates. At the same time, studies evaluating susceptibility windows show that exposure to phthalates is associated with male and female reproductive disorders, as well as adult and senile diseases. In the prostate, the effect is associated with damage to the morphophysiology of the gland, increased stress, and inflammation, created by a reactive microenvironment and greater vulnerability of the tissue to alterations related to prostatic pathologies, which affect men of reproductive age and senile men. In this sense, this study sought to investigate the influence of maternal exposure in crucial periods for the development and maturation of the prostate gland, in the modulation of post-transcriptional mechanisms (miRNAs and mRNAs), in the functional activity of the tissue (proteome), as well as in the contribution of these modulations to the origin of prostate cancer. In addition, this investigation focused on the transmission of the alterations possibly transmitted to the next generations, seeking to establish whether the late repercussions of exposure are observed in the offspring (F1) and in the generation (F2). To achieve this goal, pregnant rats of the Sprague Dawley strain were divided into 4 experimental groups: Control group (control; vehicle); 20µg/kg/day, 200µg/kg/day and 200mg/kg/day which received treatment with the phthalate mixture from gestational day 10 (GD10) to postnatal day 21 (PND21), via gavage. The group exposed to 200µg/kg/day was evaluated only to obtain the gene

expression profile; for the other analyses and comparisons, the group was disregarded. At the end of the experimental design, the pups were analyzed at 4 checkpoints: at PND22(F1) to analyze the consequences of direct maternal exposure; at PND120 to evaluate the late repercussions; at PND540 to analyze the consequences of exposure in senile life, for the histopathological analyses, and at PND22, to investigate the transgenerational effect on the offspring of exposed parents (F2). The ventral prostate was collected at the end of each checkpoint for molecular analysis. The results obtained in this research are presented in chapter format throughout the thesis. It should be noted that two articles presented in this thesis have been published in scientific journals in the field.

Lista de Abreviações

Introdução

SUG: Seio urogenital

HBP: Hiperplasia Benigna prostática

CaP: Câncer de próstata

DHT: Dihidrotestosterona

KGF: Keratinocyte Growth Factor

EGF: Epidermal Growth Factor receptor

EDCs: Desreguladores Endócrinos Químicos

DOHaD: *Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (DOHaD)*

DES: dietilestilbestrol

miRNA: MicroRNA

mRNA: RNA mensageiro/ target

BPA: Bisphenol A

TDS: Disgenesia testicular

MEHP: Mono Etilhexilo phthalate

DEHP: Bis 2-ethylhexil phthalate

DBP: Di-n-butyl ftalato phthalate

BBP: Benzil Butil ftalato phthalate

MBP: Mono Butil phthalate

PIN: Neoplasia Intraepitelial Prostática

HPIN: Neoplasia Intraepitelial Prostática de alto grau

DiBP: Diisobutyl Phthalate

BBzP: Butylbenzyl phthalate

DiNP: Diisononyl phthalate

Capítulo I

GD: Gestational exposure

F1: First generation

F2: Second generation

DEHP: Bis 2-ethylhexyl phthalate

DEP: Diethyl phthalate

PND: Postnatal day

DBP: Di-n-butylphthalate

DiBP: Diisobutyl phthalate

BBzP: Butylbenzyl phthalate

DiNP: Diisononyl phthalate

PND22: Postnatal day 22 (F1)

PND120: Postnatal day 120 (F1)

HPA: The Human Protein Atlas

VP: Ventral prostate

TDB: Toxicogenomic database

ECDs: Endocrine Disruptor Chemical

BPA: Bisphenol A

Capítulo II

PCa: Prostate cancer

ECDs: Environmental Chemical Disruptors

BPH: Benign Prostatic Hyperplasia

DOHaD: Origin of Developmental Health and Diseases

GD: Gestational Day

PND: Postnatal day

VP: Ventral prostate

F0: Offspring exposed.

F1: First generation

F2: Second generation

PND22: Postnatal day 22 (F1)

PND120: Postnatal day 120 (F1)

PPI: protein-protein interaction
TFEA: Factor Enrichment Analysis
KEA: Kinase Enrichment Analysis
KTI: Kinase-Transcription Factor Interaction
TCGA: The Genomic Cancer Atlas
HPA: The Human Protein Atlas
PRAD: Prostate Adenocarcinoma
PTPM: Post-translational protein modification

Capítulo III

EDs: Endocrine disruptors
EDCs: Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs)
GD: Gestational Day
PND: Postnatal Day
F1-PND22: Postnatal day 22 (F1)
F1-PND120: Postnatal day 120 (F1)
F2-PND22-M: Offspring of mother exposed on postnatal day 22 (F2)
F2-PND22-F: Offspring of father exposed on postnatal day 22 (F2)
DOHaD: Origin of Developmental Health and Diseases
DEHP: Bis (2-ethylhexyl) phthalate)
DEP: Diethyl phthalate
DBP: Di-n-butyl phthalate
DiBP: Diisobutyl Phthalate
BBzP: Butyl benzyl phthalate
DiNP : Diisononyl phthalate

PPI : Protein-protein interaction
CC: Cellular Compartment
BP: Biological Process
MF: Molecular Function
PCa: Prostate cancer

Anexo I

DEP: Diethyl phthalate
DBP: Di-n-butyl phthalate
DiBP: Diisobutyl Phthalate
BBzP: Butylbenzyl phthalate
DiNP: Diisononyl phthalate
MEP: Monoethyl phthalate
MBP: Monobutyl phthalate ()
MiBP: Monoiso- butyl phthalate
MBzP: Monobenzyl phthalate (MBzP)
MEHP: Monoethylhexilo phthalate
MiNP: Monoisononil phthalate
VP: Ventral Prostate
GO: Gene Ontology
PPI: Protein-Protein Interaction
INF: Inflammatory Focus (inf)
IRA: Inflammatory Reactive Atypia (IRA)
EA: Epithelial Atypia (EA)
FEH: Focal Epithelial Hyperplasia (FEH)
LGD: Low-Grad Dysplasia (LGD)
CS: Cells into the Stroma (CS)
PIN: Prostatic Intraepithelial Neoplasia (PIN)
ADEN: Adenoma (aden)

Sumário

Capítulo I.....	16
Revisão da literatura.....	16
1. Introdução.....	18
1.1. Próstata: Do desenvolvimento às condições adversas.....	18
1.2 Desreguladores endócrinos e Desreguladores Endócrinos Químicos.....	25
1.3 Desreguladores endócrinos, Influência materna e DOHaD.....	26
1.4 Desreguladores Endócrinos Químicos e a herança epigenética transgeracional	29
1.4 Os ftalatos, a herança epigenética e a oncogênese prostática	34
1.5 Morfogênese prostática e câncer de próstata	37
2. Referências.....	45
Capítulo II.....	53
Artigo científico	53
<i>In silico</i> investigation of the role of miRNAs in a possible developmental origin of prostate cancer in F1 and F2 offspring of mothers exposed to a phthalate mixture	56
Statistical analysis.....	62
Results	63
Supplementary material	76
Reference.....	78
Capítulo III	89
Artigo científico - published.....	89
Integrated transcriptome and proteome analysis shows potential biomarkers of prostate cancer in offspring of pregnant rats exposed to a phthalate mixture during gestation and lactation.....	92
Mass Spectrometry	96
Target – Phthalate interaction	99
Nomeclatura.....	100
References.....	112
Supplementary Figures	118
Capítulo IV	121
Artigo científico.....	121
Prenatal exposure to a phthalate mixture alters prostatic proteome profile in f1 and f2 generations of rats	123
5. Reference	161

Capítulo V	170
Resultados preliminares do projeto BEPE	170
Results	171
Anexo I	201
Protocolo CEUA	201
Anexo II	202
Artigo científico publicado	202
Anexo III	203
Artigo científico publicado	203
Anexo IV	204
Atividades completares desenvolvidas durante o doutorado	204
Artigos publicados	207

Capítulo I

Revisão da literatura

Lista de figuras – Introdução

Figura 1: Imagem esquemática mostrando organização histológica da diferenciação tecidual quando o utrículo prostático está diferenciado.

Figura 2: Representação esquemática destacando os tipos celulares que compõem os ductos prostáticos

Figura 3: Representação esquemática demonstrando a influência dos desreguladores endócrinos sobre o microambiente uterino e seus efeitos multi e transgeracionais.

Figura 4: Representação esquemática demonstrando o processo de biotransformação dos diésteres de ftalato no organismo.

O **capítulo I** foi montado com o intuito de apresentar os principais embasamentos que regem este estudo. Neste capítulo são apresentados os tópicos desde a formação da glândula prostática até as condições patológicas, bem como as relações dos diferentes desreguladores endócrinos e dos ftalatos com as principais doenças que acometem o aparelho reprodutor masculino e a próstata. Este capítulo também aborda a problemática que envolve as consequências da exposição materna para a saúde e desenvolvimento do indivíduo.

1. Introdução

1.1. Próstata: Do desenvolvimento às condições adversas

A organogênese prostática, a morfogênese e os eventos moleculares envolvidos nestes processos são bem similares entre humanos e roedores, por esse motivo, os roedores são frequentemente usados para os diferentes tipos de comparações investigativas associadas ao desenvolvimento dos tecidos ou as condições patológicas que acometem humanos (Cunha and Baskin 2018).

No desenvolvimento intrauterino, o mesoderma intermediário, dará origem ao seio urogenital (SUG) que, após ser estabelecido, se diferencia para originar o sistema urinário e a crista gonadal. A região proximal do SUG, após diferenciação, dará origem a bexiga urinária e a região média dará origem a glândula prostática. Em camundongos, considerando um quadro de condições gestacionais mornais, esse processo de estabelecimento do SUG ocorrerá entre o 14°-18° dia do desenvolvimento gestacional (DG); em ratos esse evento acontecerá por volta do 13°-15° do DG e em humanos o SUG aparece por volta da 8-9 semana de gestação (SG) (Marker et al., 2003; Cunha et al., 2018)(tabela 1). Entre o 16,5° – 18.5° DG, a depender do tempo de cada gestação em roedores e da 13° SG em humanos, por meio de uma cascata de sinalização molecular, as primeiras células já diferenciadas migram da região pélvica do SUG para originar o primórdio prostático (Gail S. Prins and Putz 2008; Scarano et al., 2018; Marker et al., 2003; Francis and Swain 2018).

O desenvolvimento inicial da glândula prostática é dividido em: fase de pré-brotamento do SUG, fase de surgimento dos cordões sólidos epiteliais prostáticos no epitélio do SUG; fase de alongamento e ramificação dos botões; fase de canalização dos cordões epiteliais sólidos; fase de diferenciação das células epiteliais lumbais e basais e, por fim, a fase de citodiferenciação secretória ao final deste processo é possível diferenciar o utrículo prostático e o ducto de Wolffian (Cunha et al., 2018) (fig. 1). Neste ponto, cabe destacar que a morfogênese de ramificação prostática só é iniciada após o desenvolvimento dos testículos fetais, que passam a sintetizar e secretar testosterona e andrógenos para ativar os receptores androgênicos no SUG e,

por ação da 5- α -redutase, a testosterona é convertida em Dihidrotestosterona (DHT), hormônio que coordena o processo de ramificação e o amadurecimento da glândula até a puberdade. Neste sentido, o DHT é o hormônio androgênico mais essencial para o desenvolvimento prostático. (Cunha et al., 2018; Gail S. Prins and Korach 2008). Neste sentido, interferências na cascata hormonal ou atraso no estabelecimento e desenvolvimentos dos testículos atrasará a morfogênese prostática, podendo aumentar os riscos para repercussões tardias, as quais podem ser observadas na vida adulta ou envelhecimento.

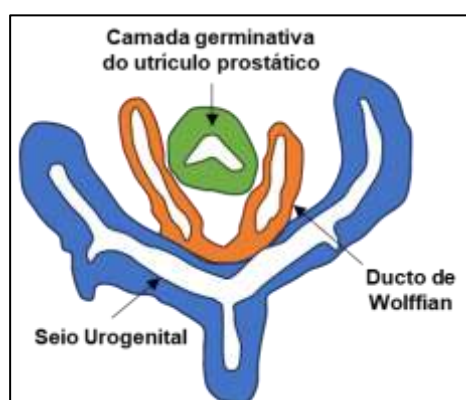


Figura 1: Imagem esquemática mostrando a organização histológica da diferenciação tecidual quando o utrículo prostático está diferenciado.

Tabela 1: Tabela adaptada de Cunha 2018 (Development of the human prostate).

Desenvolvimento	Ratos	Camundongo	Humano
Estágio de pré brotamento do seio urogenital	14-18 dias após concepção	13-15 dias após concepção	8-9 semanas
Brotamento inicial	19 dias após concepção	16-18 dias após concepção	10-11 semanas
Alongamento dos brotos e morfogênese de brotamento	1-50 dias de desenvolvimento pós-natal	1-40 dias de desenvolvimento pós-natal	Após a 11 semana
Canalização dos ductos	Aproximadamente 3-50 dias de desenvolvimento pós-natal		Após a 11 semana

Na fase de pré-brotamento do SUG, uma cascata de sinalização que estimula as células do SUG a migrarem formando assim os botões epiteliais que penetram o mesênquima circundante do SUG na base da bexiga urinária (Gail S. Prins and Korach 2008). Na fase de surgimento dos cordões sólidos epiteliais prostáticos no epitélio do SUG, os botões epiteliais são morfologicamente evidentes. Já no desenvolvimento pós-natal, os brotos se alongam e a morfogênese de brotamento passa a ser mais intensa nesta etapa. Nesta fase do desenvolvimento, é possível identificar as ramificações específicas de cada lobo ou zona prostática em ratos e humanos, respectivamente. Entre o 15°- 30° dia de desenvolvimento pós-natal (DPN), ocorrem as fases de alongamento e morfogênese de brotamento e canalização ducal, processos cruciais para a próstata atingir a maturidade completa (Gail S. Prins and Korach 2008; Cunha et al., 2018). Ainda nesta fase, há uma diferenciação de células epiteliais e os ductos passam a ser compostos por células epiteliais basais, componentes da membrana basal formando assim uma camada contínua de células e, as células luminais colunares altas justapostas, organizadas e constituintes da lâmina ducal. Pouco tempo depois, as células luminais sofrem uma citodiferenciação e passam a secretar proteínas específicas da glândula (Marker et al., 2003) (fig. 2).

Em humanos e roedores o desenvolvimento completo da glândula se estende até a pré-puberdade. Na morfogênese prostática tardia, durante o desenvolvimento pós-natal, as células mesenquimais que circundam a membrana basal se condensam e formam a camada periductal de células musculares lisas, por organização das células adjacentes ao ducto e pela diferenciação dos fibroblastos (Gail S. Prins and Putz 2008; Gail S. Prins and Birch 1995; S W Hayward, Cunha, and Dahiya 1996) . Uma rede vascular paralela se forma no estroma do tecido e, por meio de capilares, se estende até a membrana basal, para atender a demanda nutricional de toda a glândula prostática (Gail S. Prins and Putz 2008).

Ao final da morfogênese de ramificação tardia, portanto, período de intensa diferenciação tecidual, canalização e amadurecimento morfofuncional da glândula e com a devida diferenciação nos padrões de ramificação e tempo de desenvolvimento entre a próstata de roedores e humana, a arquitetura das glândulas é completamente

estabelecida, o que permite caracterizar cada um dos lobos e zonas prostáticas, respectivamente (Sugimura, Cunha, and Donjacour 1986; Lung and Cunha 1981). Localizada próxima a base da bexiga urinária, a próstata de roedores é distinguida estruturalmente e morfológicamente em lobo anterior ou glândula coaguladora, lobo ventral, lobo dorsal e lateral ou lobo dorsolateral. A glândula prostática humana, é septada em zona central, envolvida na formação do ducto ejaculatório e projetada sob a base da bexiga urinária; zona de transição, que circunda a uretra proximal no ducto ejaculatório e zona periférica, que corresponde a região apical da próstata (Marker et al., 2003; Verze, Cai, and Lorenzetti 2016; Rebello et al., 2021).

Histologicamente, a glândula madura é composta por um compartimento estromal, região rica em elementos de matriz (metaloproteinases, fibras de sustentação, fibroblastos, células endoteliais), células do sistema imune (Neutrófilos, macrófagos, linfócitos T e B, mastócitos), células musculares, nervosas, adipócitos e outros elementos celulares, que em conjunto, formam uma rede de nutrição e sustentação do tecido. Sendo assim, o estroma é de suma importância na manutenção e controle da homeostasia glandular, na organização estrutural e na sustentação tecidual (Toivanen and Shen 2017; Gail S. Prins and Lindgren 2014). O compartimento epitelial por sua vez é formado por células luminiais, células basais e neuroendócrina, que se intercalam, formando um epitélio pseudoestratificado, colunar alto. Os compartimentos epitelial e estromal interagem entre si por diferentes vias de sinalização, o que leva a um microambiente instável quando alterações são desencadeadas por condições adversas, por exemplo, processo inflamatório intenso ou estresse oxidativo (Verze, Cai, and Lorenzetti 2016; Ficarra et al., 2014). Por fim, há ainda o compartimento luminal, local onde toda a secreção glandular é depositada (Fig. 2). Considerando que os compartimentos mencionados anteriormente se tornam mais sensíveis a desregulação frente a um estímulo externo, por consequência, todo o conteúdo secretado e armazenado no compartimento luminal, pode ter qualidade reduzida, o que compromete o volume secretado em cada alvéolo prostático, prejudicando a qualidade do fluido seminal, uma vez que a glândula prostática é responsável por secretar até 30% do volume seminal total.

A glândula prostática é composta por cinco principais tipos celulares que coordenam o desenvolvimento, a diferenciação e a fisiologia glandular. As células epiteliais secretoras, que expressam receptores de andrógeno e estrógeno, secretam proteínas específicas de cada região glandular e revestem todo o compartimento luminal dos ácinos. As células epiteliais basais e as luminais, que estão aderidas a uma membrana basal, constituem o epitélio e configuram o tipo celular mais proliferativo do tecido. As células neuroendócrinas, mais escassas no indivíduo adulto, porém essenciais na organogênese glandular. Estas células expressam proteínas carreadoras, peptídeo hormonais e aminas biogênicas, bem como secretam hormônios e neurotransmissores essenciais para a morfofisiologia da glândula (Gail S. Prins and Lindgren 2014). As células transitórias, células progenitoras não diferenciadas, por isso, transitam entre células basais e secretoras e podem ser encontradas como células progenitoras não diferenciadas. Ainda, a camada basal abriga *stem cells*, que são responsáveis por manter a população de célula do tecido e são constantemente exploradas como alvos terapêuticos (fig. 2).

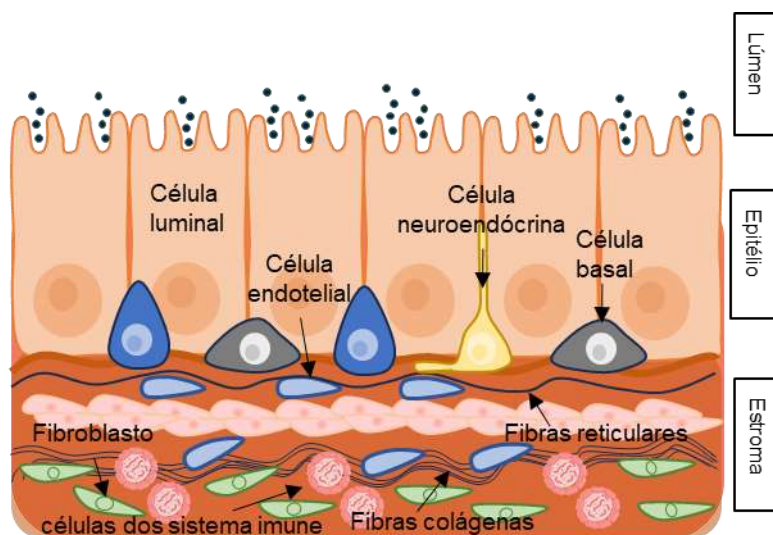


Figura 2: Representação esquemática destacando os tipos celulares que compõem os ductos prostáticos (alvéolos prostáticos). O esquema evidencia a estrutura histológica do ducto prostático e mais internamente a organização histológica dos ductos. Na imagem cada ducto é sustentado por um estroma rico em elementos da matriz extracelular, bem como, em fibroblastos, células endoteliais e células neuroendócrinas. Na camada mais acima é possível observar que

rente as células luminais há outros elementos de sustentação que formam a lâmina basal, composto por células basais, células neuroendócrinas e musculatura lisa. Ainda, o ducto é composto por células epiteliais, colunares altas e justa-postas. Estas células formam o compartimento epitelial e são responsáveis por secretar o conteúdo prostático. No interior da glândula, já no compartimento luminal, é possível observar o lúmen preenchido pela secreção prostática.

Quando atinge a maturidade, a próstata é composta por um corpo firme, glandular e fibromuscular que circunda a uretra prostática. Sua função primária é secretar nutrientes, íons, proteínas (calicreinas (KLKs), fatores de crescimento (insulin like-3) entre outros elementos que serão adicionados ao fluido ejaculatório produzido pela vesícula seminal, pela glândula bulbouretral e liberado após estímulos ejaculatórios. O plasma seminal, rico em diferentes nutrientes, é crucial para garantir a sobrevivência dos espermatozoides durante o percurso até o sistema genital feminino e ativar componentes bioquímicos essenciais para o sucesso reprodutivo (Gail S. Prins and Lindgren 2014; Verze, Cai, and Lorenzetti 2016).

O desequilíbrio na homeostasia da glândula prostática, além de diminuir a viabilidade das células germinativas (espermatozoides), aumenta os riscos para desordens prostáticas como a prostatite, hiperplasia benigna prostática (HBP) e para o câncer de próstata (CaP) (Verze, Cai, and Lorenzetti 2016; Rebello et al., 2021). Prostatite, é uma patologia comum entre homens em idade reprodutiva e, é resultado de um processo inflamatório exacerbado. Essa patologia afeta a fertilidade e está associada a disfunções sexuais, bem como as alterações hormonais. Ainda neste contexto, há vários estudos associando o aumento de prostatite ao desenvolvimento de HBP e câncer de próstata (Ficarra et al., 2014; Verze, Cai, and Lorenzetti 2016; Bostanci et al., 2013). A HBP corresponde a um aumento acentuado da glândula prostática que, quando não tratada, compromete a funções fisiológicas do aparelho reprodutor e urinário, por comprimir órgãos próximos. Apesar desta patologia apresentar perda de controle celular por reguladores como andrógenos ou genes de sinalização como KGF, EGF e insulin-like growth fator e o processo apoptótico ser inibido, o que impede o reparo de dano tecidual, as células não expressam

características de malignidade, portanto, não configura células invasivas (Verze, Cai, and Lorenzetti 2016).

O CaP, no entanto, além de ter características de malignidade, apresenta heterogeneidade devido ao surgimento de um ou mais focos multifocais (neoplasias), que surgem pela diversidade celular específica de cada região da glândula prostática descritas anteriormente e, por consequência de alterações genéticas ou ambientais (Haffner et al., 2020). Apesar de ter uma taxa de cura alta e tratamento eficaz, sem intervenções agressivas, quando diagnosticado precocemente, o CaP ainda é o tipo de câncer mais comum e letal entre homens, ficando atrás apenas do câncer de pele não-melanoma, que é comum entre homens e mulheres (Siegel et al., 2021; Parkin et al., 2002). As doenças que acometem a glândula são negligenciadas devido à falta da cultura de cuidados precoce entre a população masculina, isso contribui de forma significativa para o aumento dos casos letais decorrentes da doença.

Nas últimas décadas, houve crescente interesse das comunidades médico-científicas para entender os mecanismos que resultam no estabelecimento, desenvolvimento e progressão do CaP. Nos dias atuais, sabemos que diversos fatores envolvem a temática câncer e, neste caso especificamente a relação genoma-epigenoma são cruciais para o estabelecimento dos diferentes tipos de câncer (Haffner et al., 2020). Entretanto, a vertente célula-ambiente e ambiente-genoma/epigenoma podem ser determinantes neste contexto patológico, por exemplo, o estilo de vida, os hábitos alimentares, as condições patológicas pré-estabelecidas e o ambiente ao qual o indivíduo é exposto durante a vida pode determinar o surgimento e a gravidade de doenças. (Chiang, Mahalingam, and Flaws 2017; Skinner, Manikkam, and Guerrero-Bosagna 2010a; Monneret, Knez, and Monneret 2017; Sikka and Wang 2008; Yoon et al. 2014). Nesta investigação, o principal foco leva em consideração dois fatores: as condições maternas durante o desenvolvimento, diferenciação e morfogêneses da glândula e a exposição precoce a um conjunto de plastificantes ambientais que atuam como Desreguladores Endócrinos Químicos (DECs), porque ambos os fatores podem aumentar os riscos para a desordem morfofisiológica da glândula e para o CaP.

2. Referências

- [1] P.C. Marker, A.A. Donjacour, R. Dahiya, G.R. Cunha, Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development, *Dev. Biol.* 253 (2003) 165–174. [https://doi.org/10.1016/S0012-1606\(02\)00031-3](https://doi.org/10.1016/S0012-1606(02)00031-3).
- [2] G.S. Prins, O. Putz, Molecular signaling pathways that regulate prostate gland development, *Differentiation*. 76 (2008) 641–659. <https://doi.org/10.1111/j.1432-0436.2008.00277.x>.
- [3] W.R. Scarano, C.F. Pinho, L. Pissinatti, B.F. Gonçalves, L.O. Mendes, S.G.P. Campos, Cell junctions in the prostate: an overview about the effects of Endocrine Disrupting Chemicals (EDCS) in different experimental models, *Reprod. Toxicol.* 81 (2018) 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.08.009>.
- [4] J.C. Francis, A. Swain, Prostate organogenesis, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 8 (2018). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030353>.
- [5] R. Toivanen, M.M. Shen, Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification, *Development*. 144 (2017) 1382–1398. <https://doi.org/10.1242/dev.148270>.
- [6] G.S. Prins, L. Birch, The developmental pattern of androgen receptor expression in rat prostate lobes is altered after neonatal exposure to estrogen, *Endocrinology*. 136 (1995) 1303–1314.

- <https://doi.org/10.1210/ENDO.136.3.7867585>.
- [7] S.W. Hayward, G.R. Cunha, R. Dahiya, Normal development and carcinogenesis of the prostate. A unifying hypothesis., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 784 (1996) 50–62.
 - [8] Y. Sugimura, G.R. Cunha, a a Donjacour, Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate., *Biol. Reprod.* 34 (1986) 961–971. <https://doi.org/10.1095/biolreprod34.5.961>.
 - [9] B. Lung, G.R. Cunha, Development of seminal vesicles and coagulating glands in neonatal mice. I. The morphogenetic effects of various hormonal conditions, *Anat. Rec.* 199 (1981) 73–88. <https://doi.org/10.1002/ar.1091990108>.
 - [10] P. Verze, T. Cai, S. Lorenzetti, The role of the prostate in male fertility, health and disease, *Nat. Rev. Urol.* 13 (2016) 379–386. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.89>.
 - [11] G.S. Prins, M. Lindgren, Accessory Sex Glands in the Male, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397175-3.00018-1>.
 - [12] V. Ficarra, M. Rossanese, M. Zazzara, G. Giannarini, M. Abbinante, R. Bartoletti, V. Mirone, F. Scaglione, The role of inflammation in lower urinary tract symptoms (LUTS) due to benign prostatic hyperplasia (BPH) and its potential impact on medical therapy, *Curr. Urol. Rep.* 15 (2014) 1–6. <https://doi.org/10.1007/S11934-014-0463-9/FIGURES/1>.
 - [13] R.J. Rebello, C. Oing, K.E. Knudsen, S. Loeb, D.C. Johnson, R.E. Reiter, S. Gillesen, T. Van der Kwast, R.G. Bristow, Prostate cancer, *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2021 71. 7 (2021) 1–27. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>.
 - [14] D.S.M. Oliveira, S. Dzinic, A.I. Bonfil, A.D. Saliganan, S. Sheng, R.D. Bonfil, The mouse prostate: A basic anatomical and histological guideline, *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 16 (2016) 8–13. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2016.917>.
 - [15] Y. Bostanci, A. Kazzazi, S. Momtahn, J. Laze, B. Djavan, Correlation between benign prostatic hyperplasia and inflammation, *Curr. Opin. Urol.* 23 (2013) 5–10. <https://doi.org/10.1097/MOU.0B013E32835ABD4A>.
 - [16] M.C. Haffner, W. Zwart, M.P. Roudier, L.D. True, W.G. Nelson, J.I. Epstein, A.M. De Marzo, P.S. Nelson, S. Yegnasubramanian, Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer, *Nat. Rev. Urol.* 2020 182. 18 (2020) 79–92. <https://doi.org/10.1038/s41585-020-00400-w>.
 - [17] R.L. Siegel, K.D. Miller, H.E. Fuchs, A. Jemal, Cancer Statistics, 2021, *CA. Cancer J. Clin.* 71 (2021) 7–33. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21654>.
 - [18] D.M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay, P. Pisani, Global cancer statistics, 2002, *CA. Cancer J. Clin.* 55 (2002) 74–108. <https://doi.org/10.3322/canjclin.55.2.74>.
 - [19] C. Chiang, S. Mahalingam, J.A. Flaws, Environmental Contaminants Affecting Fertility and Somatic Health, *Semin. Reprod. Med.* 35 (2017) 241–249.
 - [20] M.K. Skinner, M. Manikkam, C. Guerrero-Bosagna, Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology, *Trends Endocrinol. Metab.* 21 (2010) 214–222.

- <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.12.007>.
- [21] C. Monneret, J. Knez, C. Monneret, What is an endocrine disruptor?, *Comptes Rendus - Biol.* 340 (2017) 403–405. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.07.004>.
 - [22] S.C. Sikka, R. Wang, Endocrine disruptors and estrogenic effects on male reproductive axis, *Asian J. Androl.* 10 (2008) 134–145. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2008.00370.x>.
 - [23] K. Yoon, S.J. Kwack, H.S. Kim, B.-M. Lee, Estrogenic Endocrine-Disrupting Chemicals: Molecular Mechanisms of Actions on Putative Human Diseases, *J. Toxicol. Environ. Heal. Part B.* 17 (2014) 127–174. <https://doi.org/10.1080/10937404.2014.882194>.
 - [24] G.G. Ying, Endocrine Disrupting Chemicals. What? Where?, 2012. <https://doi.org/10.1002/9781118346747.ch1>.
 - [25] G. Delbès, C. Levacher, R. Habert, Estrogen effects on fetal and neonatal testicular development, *Reproduction.* 132 (2006) 527–538. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01231>.
 - [26] B.J. Clark, R.K. Cochrum, The steroidogenic acute regulatory protein as a target of endocrine disruption in male reproduction, *Drug Metab. Rev.* 39 (2007) 353–370. <https://doi.org/10.1080/03602530701519151>.
 - [27] C. Wohlfahrt-Veje, K.M. Main, N.E. Skakkebaek, Testicular dysgenesis syndrome: foetal origin of adult reproductive problems, *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 71 (2009) 459–465. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03545.x>.
 - [28] M. Dorostghoal, A.A. Moazedi, A. Zardkaf, Long-term effects of maternal exposure to Di (2-ethylhexyl) Phthalate on sperm and testicular parameters in Wistar rats offspring., *Iran. J. Reprod. Med.* 10 (2012) 7–14.
 - [29] C. Monneret, What is an endocrine disruptor?, *Comptes Rendus - Biol.* 340 (2017) 403–405. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.07.004>.
 - [30] L. Ma, Endocrine disruptors in female reproductive tract development and carcinogenesis., *Trends Endocrinol. Metab.* 20 (2009) 357–63. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.03.009>.
 - [31] R.R. Newbold, W.N. Jefferson, E. Padilla-Banks, J. Haseman, Developmental exposure to diethylstilbestrol (DES) alters uterine response to estrogens in prepubescent mice: low versus high dose effects, *Reprod. Toxicol.* 18 (2004) 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2004.01.007>.
 - [32] D.D. Baird, R. Newbold, Prenatal diethylstilbestrol (DES) exposure is associated with uterine leiomyoma development, *Reprod. Toxicol.* 20 (2005) 81–84. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.01.002>.
 - [33] R.L.Y. Wong, C.L. Walker, Molecular Pathways: Environmental Estrogens Activate Nongenomic Signaling to Developmentally Reprogram the Epigenome, *Clin. Cancer Res.* 19 (2013) 3732–3737. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0021>.
 - [34] C.S. Rosenfeld, Bisphenol A and phthalate endocrine disruption of parental and social behaviors, *Front. Neurosci.* 9 (2015) 57. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00057>.

- [35] S.-M. Ho, A. Cheong, M.A. Adgent, J. Veevers, A.A. Suen, N.N.C. Tam, Y.-K. Leung, W.N. Jefferson, C.J. Williams, Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders, *Reprod. Toxicol.* 68 (2017) 85–104. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.07.011>.
- [36] A.P. Feinberg, Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease, *Nature*. 447 (2007) 433–440. <https://doi.org/10.1038/nature05919>.
- [37] D.J. Barker, P.D. Winter, C. Osmond, B. Margetts, S.J. Simmonds, Weight in infancy and death from ischaemic heart disease., *Lancet (London, England)*. 2 (1989) 577–80.
- [38] J. Guintivano, Z.A. Kaminsky, Role of epigenetic factors in the development of mental illness throughout life, *Neurosci. Res.* 102 (2016) 56–66. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2014.08.003>.
- [39] X. Zhang, S.-M. Ho, Epigenetics meets endocrinology, *J. Mol. Endocrinol.* 46 (2011) R11.
- [40] I. Palmlund, Exposure to a xenoestrogen before birth: the diethylstilbestrol experience, *J. Psychosom. Obstet. Gynecol.* 17 (1996) 71–84. <https://doi.org/10.3109/01674829609025667>.
- [41] E. Blunt, Diethylstilbestrol exposure: it's still an issue., *Holist. Nurs. Pract.* 18 (2004) 187–91.
- [42] S. Schrager, B.E. Potter, Diethylstilbestrol exposure., *Am. Fam. Physician.* 69 (2004) 2395–400.
- [43] S. Rattan, C. Zhou, C. Chiang, S. Mahalingam, E. Brehm, J.A. Flaws, Exposure to endocrine disruptors during adulthood: Consequences for female fertility, *J. Endocrinol.* 233 (2017) R109–R129. <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0023>.
- [44] S.N. de Wildt, G.L. Kearns, J.S. Leeder, J.N. van den Anker, Glucuronidation in Humans, *Clin. Pharmacokinet.* 36 (1999) 439–452. <https://doi.org/10.2165/00003088-199936060-00005>.
- [45] D. Choudhary, I. Jansson, J.B. Schenkman, M. Sarfarazi, I. Stoilov, Comparative expression profiling of 40 mouse cytochrome P450 genes in embryonic and adult tissues., *Arch. Biochem. Biophys.* 414 (2003) 91–100.
- [46] A. Bird, Perceptions of epigenetics, *Nature*. 447 (2007) 396–398. <https://doi.org/10.1038/nature05913>.
- [47] A.D. Goldberg, C.D. Allis, E. Bernstein, Epigenetics: A Landscape Takes Shape, *Cell*. 128 (2007) 635–638. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.006>.
- [48] S.L. Berger, T. Kouzarides, R. Shiekhattar, A. Shilatifard, An operational definition of epigenetics, *Genes Dev.* 23 (2009) 781–783. <https://doi.org/10.1101/gad.1787609>.
- [49] S. Singh, S.S.-L. Li, Epigenetic Effects of Environmental Chemicals Bisphenol A and Phthalates, *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) 10143–10153. <https://doi.org/10.3390/ijms130810143>.
- [50] D.C. Dolinoy, R.L. Jirtle, Environmental epigenomics in human health and disease, *Environ. Mol. Mutagen.* 49 (2008) 4–8. <https://doi.org/10.1002/em.20366>.
- [51] A. Portela, M. Esteller, Epigenetic modifications and human disease, *Nat. Biotechnol.* 28 (2010) 1057–1068. <https://doi.org/10.1038/nbt.1685>.
- [52] F. Perera, J. Herbstman, Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease, *Reprod.*

- Toxicol. 31 (2011) 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.12.055>.
- [53] L. Liu, Y. Li, T.O. Tollefsbol, Gene-Environment Interactions and Epigenetic Basis of Human Diseases 25 Gene-Environment Interactions and Epigenetic Basis of Human Diseases, 2008.
- [54] S. Choudhuri, Y. Cui, C.D. Klaassen, MOLECULAR TARGETS OF EPIGENETIC REGULATION AND EFFECTORS OF ENVIRONMENTAL INFLUENCES, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 245 (2010) 378. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2010.03.022>.
- [55] M.A. Brieño-Enríquez, J. García-López, D.B. Cárdenas, S. Guibert, E. Cleroux, L. Déd, J. de D. Hourcade, J. Pěkníková, M. Weber, J. del Mazo, Exposure to Endocrine Disruptor Induces Transgenerational Epigenetic Deregulation of MicroRNAs in Primordial Germ Cells, *PLoS One*. 10 (2015) e0124296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124296>.
- [56] S.A.A. Santos, L.M.F. Portela, A.C.L. Camargo, F.B. Constantino, K.T. Colombelli, M.N. Fioretto, R. Mattos, B.E. de Almeida Fantinatti, M.A. Denti, S. Piazza, S.L. Felisbino, E. Zambrano, L.A. Justulin, miR-18a-5p Is Involved in the Developmental Origin of Prostate Cancer in Maternally Malnourished Offspring Rats: A DOHaD Approach, *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms232314855>.
- [57] S.A. Alcantara Santos, A.C. Lima Camargo, F.B. Constantino, K.T. Colombelli, L.M. Frediani Portela, M.N. Fioretto, J.C. Souza Vieira, P.M. Padilha, M.B. de Oliveira, S.L. Felisbino, R.F. Carvalho, L.A. Justulin, Identification of potential molecular pathways involved in prostate carcinogenesis in offspring exposed to maternal malnutrition, *Aging (Albany. NY)*. 12 (2020) 19954–19978. <https://doi.org/10.18632/aging.104093>.
- [58] M.D. Anway, A.S. Cupp, M. Uzumcu, M.K. Skinner, Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility, *Science (80-.)*. 308 (2005) 1466–1469. <https://doi.org/10.1126/science.1108190>.
- [59] M.D. Anway, C. Leathers, M.K. Skinner, Endocrine Disruptor Vinclozolin Induced Epigenetic Transgenerational Adult-Onset Disease, *Endocrinology*. 147 (2006) 5515–5523. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0640>.
- [60] M.K. Skinner, Endocrine disruptor induction of epigenetic transgenerational inheritance of disease, *Mol. Cell. Endocrinol.* 398 (2014) 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.07.019>.
- [61] M.D. Anway, M.K. Skinner, Transgenerational effects of the endocrine disruptor vinclozolin on the prostate transcriptome and adult onset disease., *Prostate*. 68 (2008) 517–29. <https://doi.org/10.1002/pros.20724>.
- [62] M. Saitou, S. Kagiwada, K. Kurimoto, Epigenetic reprogramming in mouse pre-implantation development and primordial germ cells, *Development*. 139 (2012) 15–31. <https://doi.org/10.1242/dev.050849>.
- [63] F. Xin, M. Susiarjo, M.S. Bartolomei, Multigenerational and transgenerational effects of endocrine disrupting chemicals: A role for altered epigenetic regulation?, *Semin. Cell Dev. Biol.* 43 (2015) 66–

75. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2015.05.008>.
- [64] C.H. Lee, O. Akin-Olugbade, A. Kirschenbaum, Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 40 (2011) 565–575. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2011.05.012>.
- [65] G.S. Prins, Endocrine disruptors and prostate cancer risk, *Endocr. Relat. Cancer*. 15 (2008) 649–656. <https://doi.org/10.1677/ERC-08-0043>.
- [66] E. Diamanti-Kandarakis, J.P. Bourguignon, L.C. Giudice, R. Hauser, G.S. Prins, A.M. Soto, R.T. Zoeller, A.C. Gore, Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement, *Endocr. Rev.* 30 (2009) 293–342. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>.
- [67] T. Roh, C.F. Lynch, P. Weyer, K. Wang, K.M. Kelly, G. Ludewig, Low-level arsenic exposure from drinking water is associated with prostate cancer in Iowa, *Environ. Res.* 159 (2017) 338–343. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.026>.
- [68] J. Bošnjir, D. Puntarić, I. Škes, M. Klarić, S. Šimić, I. Zorić, Migration of Phthalates from Plastic Products to Model Solutions, *Coll. Antropol.* 27 (2003) 23–30.
- [69] Y. Wang, H. Zhu, K. Kannan, A Review of Biomonitoring of Phthalate Exposures, *Toxics* 2019, Vol. 7, Page 21. 7 (2019) 21. <https://doi.org/10.3390/TOXICS7020021>.
- [70] A. Araki, T. Mitsui, H. Goudarzi, T. Nakajima, C. Miyashita, S. Itoh, S. Sasaki, K. Cho, K. Moriya, N. Shinohara, K. Nonomura, R. Kishi, Prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure and disruption of adrenal androgens and glucocorticoids levels in cord blood: The Hokkaido Study, *Sci. Total Environ.* 581–582 (2017) 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.124>.
- [71] J. Bosnjir, D. Puntarić, I. Skes, M. Klarić, S. Šimić, I. Zorić, Migration of phthalates from plastic products to model solutions., *Coll. Antropol.* 27 Suppl 1 (2003) 23–30.
- [72] J.S. Fisher, Environmental anti-androgens and male reproductive health: Focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome, *Reproduction*. 127 (2004) 305–315. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00025>.
- [73] H. Frederiksen, N.E. Skakkebaek, A.M. Andersson, Metabolism of phthalates in humans, *Mol. Nutr. Food Res.* 51 (2007) 899–911. <https://doi.org/10.1002/MNFR.200600243>.
- [74] T. Schettler, N.E. Skakkebaek, D. De Kretser, H. Leffers, Human exposure to phthalates via consumer products, *Int. J. Androl.* 29 (2006) 134–139. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2605.2005.00567.X>.
- [75] H. Frederiksen, N.E. Skakkebaek, A.M. Andersson, Metabolism of phthalates in humans, *Mol. Nutr. Food Res.* 51 (2007) 899–911. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600243>.
- [76] N.E. Skakkebaek, E. Rajpert-De Meyts, K.M. Main, Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects: Opinion, *Hum. Reprod.* 16 (2001) 972–978. <https://doi.org/10.1093/humrep/16.5.972>.
- [77] M.D. Shelby, NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental

- effects of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)., NTP CERHR MON. (2006) v, vii–7, II-iii-xiii passim.
- [78] S.H. Swan, K.M. Main, F. Liu, S.L. Stewart, R.L. Kruse, A.M. Calafat, C.S. Mao, J.B. Redmon, C.L. TERNAND, S. Sullivan, J.L. Teague, Study for Future Families Research Team, Decrease in Anogenital Distance among Male Infants with Prenatal Phthalate Exposure, *Environ. Health Perspect.* 113 (2005) 1056–1061. <https://doi.org/10.1289/ehp.8100>.
- [79] P. HUANG, P. KUO, Y. CHOU, S. LIN, C. LEE, Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns☆, *Environ. Int.* 35 (2009) 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.012>.
- [80] S.H. Swan, S. Sathyanarayana, E.S. Barrett, S. Janssen, F. Liu, R.H.N. Nguyen, J.B. Redmon, the TIDES Study Team, F. Liu, E. Scher, M. Stasenko, E. Ayash, M. Schirmer, J. Farrell, M.-P. Thiet, L. Baskin, H.L. Gray Chelsea Georgesen, B.J. Rody, C.A. Terrell, K. Kaur, E. Brantley, H. Fiore, L. Kochman, L. Parlett, J. Marino, W. Hulbert, R. Mevorach, E. Pressman, K. Ivceck, B. Salveson, G. Alcedo, First trimester phthalate exposure and anogenital distance in newborns, *Hum. Reprod.* 30 (2015) 963–972. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu363>.
- [81] M.J. Silva, D.B. Barr, J.A. Reidy, N.A. Malek, C.C. Hodge, S.P. Caudill, J.W. Brock, L.L. Needham, A.M. Calafat, Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2000., *Environ. Health Perspect.* 112 (2004) 331. <https://doi.org/10.1289/EHP.6723>.
- [82] H.M. Koch, A.M. Calafat, Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture., *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 364 (2009) 2063–78. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0208>.
- [83] R. Hauser, J.D. Meeker, N.P. Singh, M.J. Silva, L. Ryan, S. Duty, A.M. Calafat, DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites, *Hum. Reprod.* 22 (2007) 688–695. <https://doi.org/10.1093/humrep/del428>.
- [84] A.P. Davis, C.G. Murphy, C.A. Saraceni-Richards, M.C. Rosenstein, T.C. Wieggers, C.J. Mattingly, Comparative Toxicogenomics Database: a knowledgebase and discovery tool for chemical-gene-disease networks, *Nucleic Acids Res.* 37 (2009) D786–D792. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn580>.
- [85] S. Singh, S.S.-L. Li, Phthalates: Toxicogenomics and inferred human diseases, *Genomics.* 97 (2011) 148–157. <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2010.11.008>.
- [86] R.R. Dietert, J.C. DeWitt, D.R. Germolec, J.T. Zelikoff, Breaking patterns of environmentally influenced disease for health risk reduction: immune perspectives., *Environ. Health Perspect.* 118 (2010) 1091–9. <https://doi.org/10.1289/ehp.1001971>.
- [87] W.R. Scarano, F.C. de Toledo, M.T. Guerra, S.G.P. de Campos, L.A.J. Júnior, S.L. Felisbino, J.A. Anselmo-Franci, S.R. Taboga, W.D.G. Kempinas, Long-term effects of developmental exposure to di-n-butyl-phthalate (DBP) on rat prostate: Proliferative and inflammatory disorders and a possible role of androgens, *Toxicology.* 262 (2009) 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.06.011>.
- [88] A.R. Peixoto, T.M. Santos, J.Z. Brandt, F.K. Delella, B.F. Gonçalves, S.G.P. Campos, S.R.

- Taboga, W.J. Favaro, R.F. Domeniconi, W.R. Scarano, Gestational and lactational exposition to Di- *N* -butyl-phthalate (DBP) increases inflammation and preneoplastic lesions in prostate of wistar rats after carcinogenic *N* -methyl- *N* -nitrosourea (MNU) plus testosterone protocol, *Environ. Toxicol.* 31 (2016) 1185–1195. <https://doi.org/10.1002/tox.22126>.
- [89] X. Wang, Y. Wang, Q. Song, J. Wu, Y. Zhao, S. Yao, Z. Sun, Y. Zhang, In utero and lactational exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate increased the susceptibility of prostate carcinogenesis in male offspring, *Reprod. Toxicol.* 69 (2017) 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.01.008>.
- [90] P.S.L. Vilamaior, S.R. Taboga, H.F. Carvalho, Postnatal growth of the ventral prostate in Wistar rats: A stereological and morphometrical study, *Anat. Rec. - Part A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.* 288 (2006) 885–892. <https://doi.org/10.1002/ar.a.20363>.
- [91] C.M. Saffarini, E. V. McDonnell-Clark, A. Amin, S.M. Huse, K. Boekelheide, Developmental Exposure to Estrogen Alters Differentiation and Epigenetic Programming in a Human Fetal Prostate Xenograft Model, *PLoS One.* 10 (2015) e0122290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122290>.
- [92] R. Santi, R.R. Newbold, S. Mäkelä, L. Pylkkänen, J.A. McLachlan, Developmental estrogenization and prostatic neoplasia., *Prostate.* 24 (1994) 67–78.
- [93] Y. Zhao, L. Chen, L.X. Li, C.M. Xie, D. Li, H.J. Shi, Y.H. Zhang, Gender-specific relationship between prenatal exposure to phthalates and intrauterine growth restriction, *Pediatr. Res.* 76 (2014) 401–408. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.103>.
- [94] J. LaRocca, A.M. Binder, T.F. McElrath, K.B. Michels, The impact of first trimester phthalate and phenol exposure on IGF2/H19 genomic imprinting and birth outcomes, *Environ. Res.* 133 (2014) 396–406. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2014.04.032>.
- [95] A.M.B. Cavalca, A.M. Aquino, F.C. Mosele, L.A. Justulin, F.K. Delella, J.A. Flaws, W.R. Scarano, Effects of a phthalate metabolite mixture on both normal and tumoral human prostate cells, *Environ. Toxicol.* (2022). <https://doi.org/10.1002/TOX.23619>.
- [96] Y.J. Zhang, J.L. Guo, J. chuan Xue, C.L. Bai, Y. Guo, Phthalate metabolites: Characterization, toxicities, global distribution, and exposure assessment, *Environ. Pollut.* 291 (2021). <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2021.118106>.
- [97] W.A. Gardner, Hypothesis: the prenatal origins of prostate cancer, *Hum. Pathol.* 26 (1995) 1291–1292. [https://doi.org/10.1016/0046-8177\(95\)90291-0](https://doi.org/10.1016/0046-8177(95)90291-0).