

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 02/08/2020.

EFEITOS DA RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA SOBRE O
PADRÃO VASCULAR E EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS NO
EPIDÍDIMO DE RATOS WISTAR MACHOS EM DIFERENTES
FASES DO DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL

MARILIA MARTINS CAVARIANI

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

Raquel Fantin Domeniconi

**BOTUCATU – SP
2019**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITOS DA RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA SOBRE O
PADRÃO VASCULAR E EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS NO
EPIDÍDIMO DE RATOS WISTAR MACHOS EM DIFERENTES
FASES DO DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL

MARILIA MARTINS CAVARIANI

ORIENTADORA: PROFA. DRA. RAQUEL FANTIN DOMENICONI

CO-ORIENTADORA: PROF. DRA. PATRICIA FERNANDA FELIPE PINHEIRO

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

Raquel Fantin Domeniconi

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Cavariani, Marília Martins.

Efeitos da restrição proteica materna sobre o padrão vascular e expressão de proteínas no epidídimo de ratos Wistar machos em diferentes fases do desenvolvimento pós-natal / Marília Martins Cavariani. - Botucatu, 2019

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

Orientador: Raquel Fantin Domeniconi

Coorientador: Patricia Fernanda Felipe Pinheiro

Capes: 20601000

1. Restrição calórica. 2. Epidídimo. 3. Desenvolvimento fetal. 4. Ratos Wistar.

Palavras-chave: Desenvolvimento pós-natal; Epidídimo; Programação fetal; Restrição proteica.

Dedicatória

Este trabalho é dedicado à minha avó, Maria Odete Dias Martins.

Obrigada por todo apoio, encorajamento e compreensão.

Mesmo com a saudade diária, seu amor foi sentido todos os dias e foi essencial para que eu continuasse em frente contra todas as dificuldades.

Agradeço imensamente a Deus por ter nos unido nesta vida.

Amo-te para todo o sempre.

Agradecimientos

A minha orientadora, Dra. Raquel Fantin Domeniconi, por ter me recebido de braços abertos em seu laboratório. Obrigada por acreditar no meu potencial e capacidade quando eu muitas vezes duvidei. Obrigada por todas as oportunidades, por todos os ensinamentos e por contribuir imensamente com meu crescimento pessoal e profissional.

A minha querida co-orientadora Dra. Patricia Fernanda Felipe Pinheiro, por me ceder parte de seu material, seu tempo e por todos os conselhos. Obrigada pelo conhecimento que me transmitiu e por toda dedicação e paciência que teve para comigo.

Ao Dr. Luiz Gustavo de Almeida Chuffa, pela colaboração, aprendizado, tempo e dedicação. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro (processo FAPESP: 2015/18767-1).

Aos meus amados pais, Mario Lourenço Cavariani e Maria Lucilia Martins Cavariani, por todo amor, força e pela confiança que sempre tiveram em mim. Tudo que fiz até hoje, tudo que conquistei, foi por que sabia que vocês estariam sempre prontos a me apoiar. Não importava qual seria o resultado, eu sabia que vocês estariam lá para mim, seja para vibrar ou consolar. Amo-vos além da eternidade.

A minha irmã e melhor amiga, Isabel Martins Cavariani, por me fazer querer ser uma pessoa melhor para ela todos os dias. Para mim é uma felicidade imensa poder tê-la em minha vida. Foi com você e por você que aprendi a pensar na felicidade dos outros. Amo-te, haja o que houver.

Ao meu noivo, Ricardo da Silva Dias, por toda compreensão, incentivo e coragem. O amor que sentimos um pelo outro é o que me move. É tanto carinho, respeito e cumplicidade, me faz querer te encher de orgulho, estar perto, você é para mim um exemplo de vontade e superação. Foi seu apoio e sua força que me mantiveram firme no meu propósito. Obrigada por estar sempre ao meu lado, te amo profundamente.

Aos meus amados avós, José Martins, Wagner Cavariani e Zenaide Sonsin Cavariani, que me ensinaram o amor pela natureza, pela educação e pelo próximo. Grande parte da pessoa que me tornei, eu devo a vocês.

Aos meus amados tios Paulo Roberto de Almeida Silvaes e Maria Regina Cavariani Silvaes, por todo amor, carinho, incentivo, preocupação, acolhida e confiança. Sem vocês este sonho não seria possível, vocês são mais do que tios, são anjos da guarda. Obrigada por tudo.

A minha companheira de laboratório que se tornou minha amiga para toda a vida, Talita de Mello Santos, por todos os ensinamentos, ideias, discussões e carinho. Durante essa jornada compartilhamos mais do que dados, técnicas e resultados. Compartilhamos risos, lágrimas, segredos, alegrias e experiências de vida. Você me ensinou muito mais do que se pode aprender somente dentro de um laboratório. Obrigada por me deixar ser parte da sua vida e por entrar na minha.

As minhas amigas amadas, Carina e Ana, que me socorreram quando eu precisei, riram comigo, me deram força e coragem quando estas me faltaram. Seus abraços, conselhos e carinho foram fundamentais durante este trabalho. Tive muita sorte e agradeço muito a Deus por ter colocado vocês no meu caminho. Amo vocês.

A minha amiga querida, Josiane de Lima Rosa, que me acompanha desde a graduação. É um privilégio poder compartilhar toda minha jornada profissional e pessoal com você. Sua garra, força e persistência diante de todas as dificuldades são uma inspiração para mim. Obrigada por estar sempre presente, por todo carinho, conselhos e apoio. Amo você, amigue.

A minha companheira de laboratório, Dhrielly, obrigada por me ensinar a ensinar. Por ser tão atenta, solícita e dedicada sempre. Você foi fundamental para a realização deste trabalho.

Aos meus companheiros de departamento, Vanessa, Maira, Victória, Henrique, Alana e Luiz pelos conhecimentos compartilhados, os almoços divertidos e por todas as risadas que tornaram meus dias de pós-graduação e minha rotina mais leves.

A família “Reprodução de A a Z”, por reacender a chama da docência em mim e por todos os anos me mostrar como podemos tocar e mudar a vida das pessoas com pequenos gestos e com dedicação. A vocês, todo o meu amor.

E a Deus que sempre perfeito, me amparou em todos os momentos, colocando sempre pessoas maravilhosas em meus caminhos e que tornaram este sonho possível.

Muitíssimo obrigada!

Epígrafe

*Seu trabalho vai preencher grande parte da sua vida e a única
maneira de ficar realmente satisfeito é fazer o que você
acredita ser um ótimo trabalho.*

Steve Jobs

SUMÁRIO

<u>RESUMO</u>	03
<u>ABSTRACT</u>	06
<u>INTRODUÇÃO</u>	09
<u>JUSTIFICATIVA</u>	24
<u>OBJETIVOS</u>	26
<u>MATERIAIS E MÉTODOS</u>	28
Animais	29
Rações Utilizadas	29
Delineamento experimental	30
Parâmetros Maternos	31
Parâmetros Relacionados à Prole	32
Dosagens Hormonais	32
Processamento e Inclusão dos Epidídimos e Preparação das Lâminas para Realização de Imuno-histoquímica e Análises Histológicas	33
Análises Morfológicas	34
Análises Morfométricas	34
Imuno-histoquímica	34
Análise da Densidade Microvascular (DMV)	36
Extração e Quantificação de Proteínas e Western blotting	36
Análises Estatísticas	39
<u>CAPÍTULO I</u>	40
Maternal Protein Restriction Differentially Alters the Expression of AQP1, AQP9 and VEGFr-2 in the Epididymis of Rat Offspring	42
<u>CAPÍTULO II</u>	60
Maternal Protein Restriction Alters the Expression of Proteins Related to the Structure and Functioning of the Offspring Epididymis in an Age-Dependent Manner	62
<u>CONCLUSÃO</u>	104
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	106
<u>APÊNDICES</u>	122
Parâmetros Maternos	123
<u>ANEXOS</u>	128

Resumo

O estado nutricional materno desempenha papel crucial na saúde e no bem-estar do feto. Alterações testiculares, prostáticas e espermáticas foram observadas em animais adultos, cujas mães sofreram restrição de proteína. No entanto, não há trabalhos com este modelo experimental que enfoquem o desenvolvimento, padrão de vascularização e seus reflexos na expressão de proteínas no epidídimo. O objetivo deste estudo é investigar o padrão das respostas morfológicas, imuno-histoquímicas e expressão de proteínas do epidídimo da prole de ratos *Wistar* de mães submetidas à restrição proteica no período de gestação e de lactação. Fêmeas prenhes foram alocadas nos grupos experimentais normoproteico (NP) e hipoproteico (HP) que receberam, respectivamente, dietas contendo 17% e 6% de proteínas durante gestação e lactação. Após o desmame, os ratos receberam dieta padrão para roedores até as idades de 21, 44 e 120 dias pós-natais (DPN) quando foram eutanasiados. Os epidídimos foram coletados e processados segundo técnicas histológicas, imuno-histoquímicas e de *western blotting*. Nos filhotes HP, o tamanho reduzido e baixo peso observados ao nascimento se mantiveram até o DPN 120, acompanhados da redução dos órgãos do sistema genital masculino para todas as idades analisadas. A dieta hipoproteica materna diminuiu os níveis séricos de testosterona nos animais no DPN 44, aumentou os níveis de aldosterona nos animais no DPN 21 e não alterou os níveis de estradiol em nenhuma das idades. Nos animais HP, a expressão de AR foi reduzida em todo epidídimo no DPN 44, enquanto a expressão de ER α mostrou-se aumentada no corpo e cauda nos DPNs 21 e 44 e a expressão de ER β foi reduzida no segmento inicial e cabeça no DPN 120. A imunolocalização destes receptores hormonais foi observada no núcleo e citoplasma das células epiteliais epididimárias e nas células do interstício do órgão em todas as idades. Apesar da diminuição na expressão de AQP9 no segmento inicial e cabeça assim como o aumento na expressão de AQP1 e AQP9 no corpo e cauda terem sido significativos somente para os animais HP no DPN 44, essas alterações também foram observadas nos animais HP nos DPNs 21 e 120. Para animais NP e HP de todas as idades, a imunolocalização de AQP1 apareceu nas células endoteliais de canais vasculares ao longo de todo órgão, enquanto a imunolocalização de AQP9 foi observada nos estereocílios das células principais do epidídimo. A Expressão do VEGFa não foi diferente entre os animais NP e HP em nenhuma das idades. Já a expressão do seu receptor (VEGFR-2) foi menor no segmento inicial e cabeça dos animais HP no DPN 21. A restrição proteica materna aumentou a expressão da Src 416 em todo epidídimo no DPN 21, enquanto diminuiu a expressão desta proteína no segmento inicial e cabeça no DPN 44 e no corpo e cauda no DPN 120. Já a expressão da Src 527 foi diminuída no segmento inicial e cabeça dos animais HP no DPN 21. Observou-se o aumento da expressão da Cldn-1 somente no corpo e cauda epididimários dos animais HP no DPN 44. O índice de

densidade microvascular (DMV) e o índice de DMV/estroma dos animais HP nos DPNs 21 e 44 foram menores do que nos animais NP nestas idades. Mesmo que algumas das alterações observadas para os filhotes HP não tenham se mantido até a vida adulta, a oferta insuficiente de proteínas no início da vida alterou a estrutura e o funcionamento do epidídimo em períodos importantes de seu desenvolvimento pós-natal.

Palavras chaves: epidídimo, restrição proteica, desenvolvimento pós-natal, programação fetal

Abstract

Maternal nutrition status plays a crucial role in the health and well-being of the fetus. Changes of testes and prostate as well as spermatic disorders were observed in adult animals whose mothers were subjected to protein restriction. However, there are no studies with this experimental model that focus the development and the vascular pattern of epididymis, as well as their reflexes in the expression of proteins of the epididymis. The aim of this study is to investigate the pattern of morphometric, immunohistochemical and protein expression of the epididymis of the Wistar rat offspring whose mothers were subjected to a low-protein diet during gestation and lactation. Pregnant females were divided into normoprotein (NP) group and low-protein (LP) group that received, respectively, diets containing 17% and 6% of protein during gestation and lactation. After weaning, the LP and NP male pups received the standard diet for rodents until the ages of 21, 44 and 120 days (PND), when they were euthanized. The epididymides were collected and processed according to histological, immunohistochemical and western blotting techniques. In the LP offspring, the smaller body size and low weight observed at birth remained until the PND 120, as well as the reduction of the male genital system organs weight for all analyzed ages. Maternal low-protein diet decreased testosterone serum levels in animals at PND 44, increased aldosterone serum levels in animals at PND 21 and did not altered estradiol serum levels in any age. In LP animals, the AR expression was decreased throughout epididymis at PND 44, whereas ER α expression was increased in epididymis corpus plus cauda at PND 21 and 44, and ER β expression was reduced in epididymis initial segment plus caput at PND 120. Immunolocalization of these hormone receptors were observed in the nucleus and cytoplasm of epididymis epithelial cells and in the interstitial cells of this organ at all ages. The decrease of AQP9 expression on the initial segment plus caput as well as the increase of AQP1 and AQP9 expression on the corpus plus cauda were significant only in LP animals at PND 44. However, these alterations were also observed in LP animals at PND 21 and 120. The immunolocalization pattern of AQP1 and AQP9 was similar between LP and NP animals at all ages, in with AQP1 staining appearing on endothelial cells of vascular channels throughout the organ, while the immunolocalization of AQP9 was observed in the stereocilia of epididymis principal cells. The VEGFa expression in the epididymis was not different between NP and LP animals in none of the analyzed ages. However, the expression of its receptor (VEGFr-2) was lower on epididymis initial segment plus caput of LP animals at PND 21. Maternal protein restriction increased the Src 416 expression throughout epididymis at PND 21, whereas decreased the expression of this protein on epididymis initial segment plus caput at PND 44 and on epididymis corpus plus cauda at PND 120. Conversely, Src 527 expression was decreased in epididymis initial segment plus caput in LP animals at PND 21.

Cldn-1 expression was increased only in the epididymis corpus plus cauda of LP animals at PND 44. The microvascular density (MVD) and the MDV/stroma index of LP animals at PND 21 and 44 were lower than those of NP animals at these ages. Although some of the changes observed for LP pups were not maintained until adulthood, we observed that the insufficient supply of proteins in early life altered the structure and the functioning of the epididymis in important periods of postnatal epididymal development.

Keywords: epididymis, protein restriction, postnatal development, fetal programming

Introdução

Programação Fetal

Um dos primeiros conceitos a surgir na literatura, relacionando as condições do meio intrauterino às alterações no desenvolvimento da progênie, foi o da “origem fetal das doenças da idade adulta”(Barker, 1995a). A hipótese da “origem fetal” propõe que alterações na nutrição e no estado hormonal fetais resultam em adaptações durante o desenvolvimento capazes de alterar a estrutura, fisiologia e metabolismo do indivíduo em formação, predispondo-o, assim, a doenças cardiovasculares, metabólicas e endócrinas na vida adulta (Barker, 1995b; 2007).

As alterações e adaptações do conceito podem ocorrer de forma permanente e, nesse caso, surge o conceito de “programação fetal”, que consiste em um processo mais geral por meio do qual um estímulo ou insulto aplicado em um período crítico ou sensível do desenvolvimento intrauterino, pode levar a alterações permanentes na estrutura ou no funcionamento de órgãos e/ou funções metabólicas do organismo em formação (Lucas, 1991).

Eventos decorridos no início da vida podem gerar consequências a longo prazo através de danos diretos (como por exemplo, perda de um membro devido a acidente vascular), por indução, deleção ou desenvolvimento prejudicado de estrutura somática ou ainda por meio de alteração fisiológica, sendo os dois últimos provocados por um estímulo ou insulto precoce ocorrido em período crítico do desenvolvimento, com consequências a longo prazo para a função do organismo. Dessa maneira, o termo “programação” se aplica aos dois últimos casos, nos quais o estímulo programador possui um efeito duradouro ou permanente (Lucas, 1998).

Hales e Barker (1992) investigando a correlação entre o baixo peso ao nascer e na infância associados com maior risco de desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo 2 e síndrome metabólica na vida adulta, propuseram a “hipótese do fenótipo poupador”, afirmando que uma condição nutricional intrauterina adversa é capaz de programar uma série de adaptações no feto em desenvolvimento constituindo um fenótipo “econômico”, que além de aumentar suas chances de sobrevivência imediata, também conferem vantagens em um ambiente pós-natal de escassez nutricional.

Dessa maneira, o feto interage de maneira dinâmica com o ambiente materno e prevê o meio em que provavelmente nasça, se adaptando para obter uma futura vantagem competitiva (Gluckman e Hanson, 2006). Se os ambientes pré e pós-natais forem compatíveis, o fenótipo será normal, no entanto, se houver incompatibilidade entre o ambiente previsto e o real na vida pós-natal, a programação fetal tornará o indivíduo inapto, aumentando a suscetibilidade do

organismo à obesidade e a doenças metabólicas (Armitage *et al.*, 2005; Martin-Gronert e Ozanne, 2010; Qasem *et al.*, 2012).

Atualmente, a hipótese de que as condições ambientais intrauterinas são capazes de influenciar o estabelecimento de doenças na idade adulta é conhecida como *Developmental Origins of Health and Disease Hypothesis* ou “hipótese das origens desenvolvimentistas da saúde e doença” (DOHaD) (Jazwiec e Sloboda, 2019).

Uma das características mais interessantes e significativas da programação fetal é a evidência de que as adaptações ao ambiente intrauterino podem ser passadas ao longo de várias gerações, com os descendentes nunca tendo sido expostos diretamente ao fator estressor, principalmente através das chamadas alterações epigenéticas (Zambrano, 2009; Sebert *et al.*, 2011).

Os eventos epigenéticos estão relacionados com a plasticidade do organismo perante estímulos adversos, capazes de alterar permanentemente a estrutura e a função específica de sistemas e órgãos, desempenhando, portanto, papel importante no desenvolvimento e sendo essenciais para a programação correta da expressão dos genes (Rothhammer e Bosserhoff, 2007). Processos epigenéticos, como a metilação do DNA e modificações de histonas, podem induzir mudanças hereditárias na expressão gênica sem que tenha havido alteração na sequência genética. Assim, o epigenoma pode ser considerado um registro molecular de eventos que se acumulam ao longo da vida de um organismo (Bird e Macleod, 2004; Godfrey *et al.*, 2015).

Restrição Proteica Materna e a Programação Fetal

Durante a gravidez, o feto em desenvolvimento depende totalmente da mãe e do ambiente materno para suprir suas necessidades nutricionais. Portanto, parece quase inquestionável afirmar que a nutrição materna é capaz de influenciar a saúde fetal e o resultado da gravidez (Mcardle *et al.*, 2006; Lindsay *et al.*, 2019).

Neste sentido, diversos estudos demonstram que os componentes e a qualidade da dieta materna, durante períodos críticos do desenvolvimento, podem remodelar o genoma da prole no útero. E que alterações epigenéticas induzidas no início da vida podem alterar permanentemente o fenótipo do organismo adulto, tornando-o susceptível a uma série de doenças (Masuyama e Hiramatsu, 2012; Jiang *et al.*, 2014; Fleming *et al.*, 2015).

A “fome holandesa” foi um período de extrema escassez alimentar que teve início com a invasão dos Aliados (Estados Unidos, Reino Unido, União Soviética, França, China e Polônia)

na Holanda durante a segunda guerra mundial. Como retaliação, os alemães proibiram o transporte de alimento para o país até o início de novembro de 1944, quando esse embargo foi suspenso e o transporte de alimentos pela água foi novamente permitido. No entanto, nesta época a maioria dos canais e vias fluviais estava congelada devido ao inverno rigoroso, tornando impossível a entrada de mantimentos na Holanda, de modo que os estoques de alimentos do país se esgotaram rapidamente (Roseboom *et al.*, 2011).

Durante a “fome holandesa”, as rações diárias oficiais para a população adulta do país diminuíram abruptamente de aproximadamente 1.400 calorias por dia, em outubro de 1944, para menos de 1000 calorias, no final de novembro de 1944. No auge da fome, entre dezembro de 1944 e abril de 1945, as rações diárias oficiais em Amsterdã variavam entre apenas 400 e 800 calorias (Carpinello *et al.*, 2018). Apesar de trágico em termos humanitários, essas características proporcionam uma oportunidade única de estudar os efeitos de um período curto, porém grave, de desnutrição materna durante os diferentes estágios da gestação na prole (Painter *et al.*, 2005).

Grande parte dos conhecimentos sobre programação fetal resultou do estudo de modelos de desnutrição materna e sua influência na saúde da prole. Estudos descritos a partir das décadas de 1970 e 1980 passaram a associar a restrição nutricional materna e, principalmente, a restrição proteica, não só com o retardo no crescimento intrauterino da prole, mas, principalmente, com a maior predisposição para o desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta, em particular a hipertensão, obesidade e a diabetes *mellitus* tipo 2 (Imdad e Bhutta, 2012; Grissom *et al.*, 2014).

Durante a gravidez, recomenda-se o aumento da ingestão de proteínas para suprir a demanda adicional de nitrogênio exigida tanto pela mãe, quanto pelo indivíduo em formação. Nessa fase há também um aumento do *turnover* proteico para satisfazer as exigências de crescimento rápido do embrião (Jolly *et al.*, 2004). Além disso, a ingestão insuficiente de proteínas entre grande parte da população humana, por motivos culturais ou econômicos, é uma preocupação global. Fazendo do modelo de restrição proteica um dos modelos de restrição precoce do crescimento mais caracterizados e estudados até hoje (Fleming *et al.*, 2015; Semba, 2016; Herring *et al.*, 2018).

Algumas áreas de particular interesse têm sido as investigações dos efeitos a longo prazo de dietas maternas com baixa concentração de proteína sobre a função e estrutura de órgãos e tecidos sensíveis à insulina, funções cardíacas, hipertensão, obesidade e função renais da prole (Stocker *et al.*, 2005; Le Clair *et al.*, 2009; Hales e Barker, 2013; Herring *et al.*, 2018).

A restrição proteica materna leva a diminuição da vascularização das ilhotas pancreáticas, da massa de células beta e do tamanho e conteúdo de insulina das ilhotas em seus descendentes, tornando o processamento da glicose insuficiente e culminando com o aparecimento da diabetes *mellitus* tipo 2 (Bertin *et al.*, 2002; Martin-Gronert e Ozanne, 2007; Berends *et al.*, 2013). Disfunção cardíaca patológica, remodelação diastólica e aumento da sensibilidade à lesão isquêmica durante a vida adulta também são observadas em fetos cujas mães sofreram restrição de proteína durante a gestação e lactação (Meyer e Zhang, 2007). Muitos estudos relatam ainda, que a restrição proteica materna resulta em alterações na estrutura e funcionamento renal (redução no número de néfrons) dos fetos (Woods *et al.*, 2001; Zimanyi *et al.*, 2006; Mino *et al.*, 2010; Sene Lde *et al.*, 2013), além de produzir proles com restrição de crescimento ao nascer e posterior desenvolvimento de obesidade precoce (*catch-up growth*) (Ozanne e Hales, 2004; Ozanne e Nicholas Hales, 2005; Berends *et al.*, 2013).

A nutrição durante a gravidez é, portanto, um fator ambiental capaz de ativar interações fisiológicas entre mãe e conceito, mediadas por diversos mecanismos, incluindo a sinalização hormonal, podendo causar alterações epigenéticas em genes reguladores dos tecidos-alvos desses hormônios. Tais interações podem modificar a eficiência placentária, o crescimento e o caráter metabólico fetal, estabelecendo as bases para diversas doenças quando a disponibilidade de nutrientes gestacional e pós-natal são discordantes (Fleming *et al.*, 2015).

Restrição Proteica Materna e Aspectos Reprodutivos Masculinos

Embora alguns efeitos da restrição proteica sejam consequências diretas das alterações na disponibilidade de substrato, vários outros são mediados por efeitos hormonais. Estes podem alterar o desenvolvimento de tecidos fetais específicos durante os períodos sensíveis do desenvolvimento, ou levar a mudanças duradouras na secreção hormonal ou na sensibilidade do tecido ao hormônio (Godfrey e Barker, 2000; Console *et al.*, 2001; Peixoto-Silva *et al.*, 2011; Rinaldi *et al.*, 2018).

Ratos submetidos a condições adversas no balanço energético, como na restrição proteica materna durante os períodos de gestação e lactação, apresentam aumento ou diminuição da secreção dos hormônios luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH), testosterona, estradiol e aldosterona, o que pode ter impacto significativo sobre órgãos e funções do sistema genital (Zambrano *et al.*, 2005; Guzman *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2012; Otani *et al.*, 2012; Sathishkumar *et al.*, 2012).

Estudos epidemiológicos e experimentais, humanos e animais, relacionados aos efeitos da restrição proteica materna sobre aspectos reprodutivos, sobretudo os masculinos, são relativamente escassos em comparação àqueles que abordam aspectos da síndrome metabólica. No entanto, dados da literatura indicam que este modelo experimental provocou alterações testiculares, prostáticas, espermáticas e de instalação da puberdade em animais adultos, cujas mães sofreram restrição de proteína (Zambrano *et al.*, 2005; Toledo *et al.*, 2011; Rodriguez-Gonzalez *et al.*, 2012; Rodriguez-Gonzalez *et al.*, 2014; Colombelli *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2018).

Com relação às alterações espermáticas, foi observado que a restrição proteica materna provocou alterações associadas, principalmente, às funções do epidídimo, como a motilidade, viabilidade e concentração espermáticas, além de aumentar o número de espermatozoides com alterações morfológicas (principalmente na cauda e peça intermediária) e presença de gota citoplasmática (Toledo *et al.*, 2011; Rodriguez-Gonzalez *et al.*, 2014). Dessa maneira, apesar dos trabalhos mostrarem efeitos da restrição proteica associados com as funções epididimárias, as causas dessas alterações ainda não foram esclarecidas. Ou seja, não há informações na literatura que esclareçam como a restrição proteica, em fase inicial do desenvolvimento, afeta a função deste órgão.

O Epidídimo

O epidídimo é um órgão do sistema genital masculino formado por um único ducto altamente enovelado, cuja função primária é transportar os espermatozoides que chegam do testículo, via ductos eferentes, até o ducto deferente. Durante este trajeto o epidídimo desempenha sua função principal, sendo responsável pela estocagem, imunoproteção, concentração e maturação destes gametas (Cosentino e Cockett, 1986; Hermo, L.; e Robaire, B. , 2002; Gatti *et al.*, 2004; Junqueira, 2011).

O ducto epididimário apresenta muitas regiões citologicamente distintas, sendo constituído por epitélio colunar pseudo-estratificado composto por seis tipos celulares: células estreitas, apicais, claras, basais, halo e principais, que desempenham diferentes funções necessárias para o bom funcionamento deste órgão (Figura 1) (Hermo, L.; e Robaire, B. , 2002; Robaire B.; Hinton, 2015).

De maneira geral, o epidídimo do rato é dividido anatomicamente em quatro regiões distintas: segmento inicial, cabeça, corpo e cauda, com cada segmento sendo responsável por

funções características como: secreção, endocitose, absorção e acidificação, que levam à constituição de meio intraluminal específico e adequado para o amadurecimento espermático (Figura 1) (Gatti *et al.*, 2004; Franca *et al.*, 2005; Robaire *et al.*, 2006; Robaire B.; Hinton, 2015).

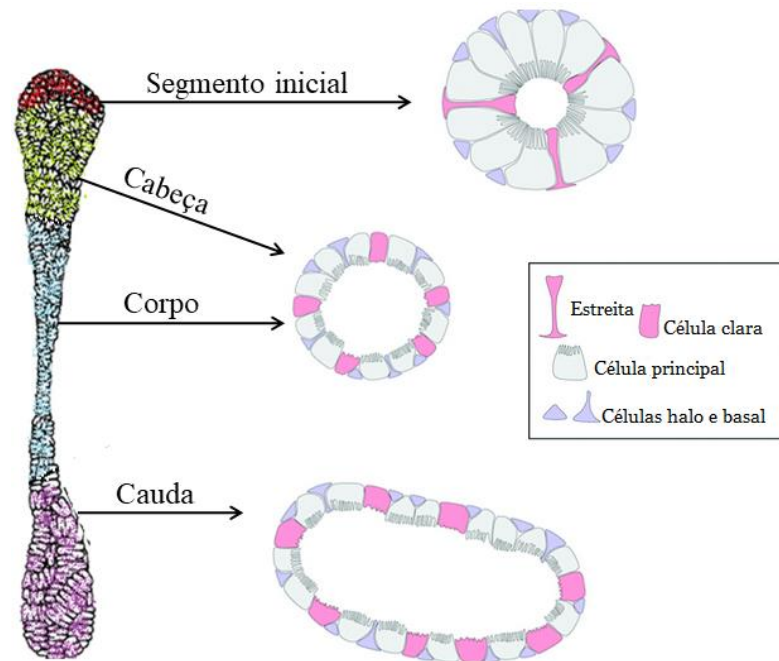


Figura 1 – Representação esquemática do epidídimo de rato evidenciando as quatro regiões em que o órgão é dividido: segmento inicial, cabeça, corpo e cauda. E representação das células que compõem o epitélio epididimário em cada uma dessas regiões. Fonte: adaptado de Shum *et al.* (2009).

No início de seu desenvolvimento o epidídimo consiste em um órgão epitelial tubular simples. A determinação de como os processos de alongamento, expansão e dobramento levarão à constituição do epidídimo com um complexo órgão enovelado é um tema que vem atraindo cada vez mais o interesse de pesquisadores (Joseph *et al.*, 2009).

A parte proximal do ducto de Wolffian dá origem ao epidídimo. Em humanos, somente a partir da oitava semana do desenvolvimento fetal, por influência da testosterona, este ducto adquire aspecto enovelado (Moore *et al.*, 2016). Nesse período há considerável remodelação extracelular, que ocorre de maneira assimétrica e pode ser observada apenas no local onde o *looping* ou enrolamento acontece. Assim, a interação ente epitélio e mesênquima é necessária para que ocorra o enovelamento do órgão (Hinton *et al.*, 2011).

O desenvolvimento pós-natal epididimário nos mamíferos em geral é dividido em três períodos: período indiferenciado, período de diferenciação e período de expansão (Hinton *et al.*, 2011).

O período indiferenciado corresponde ao intervalo do DPN 1 até o DPN 15, nele inicia-se a segmentação anatômica do epidídimo e o epitélio epididimário é composto por células colunares (Hermo, L. e Robaire, B., 2002; Rodríguez, 2002).

O período de diferenciação abrange os dias entre o DPN 16 e o DPN 44 e seu início é marcado pelo aparecimento das células halo. Aos 21 dias de idade, ocorre pico da atividade proliferativa das células do segmento inicial além da completa formação da barreira hemato-epididimária (Rodríguez, 2002).

Após o DPN 44 o epidídimo inicia o período de expansão, marcado pelo crescimento contínuo do órgão. No DPN 49 os primeiros espermatozoides começam a aparecer no lúmen epididimário, atingindo sua concentração máxima no órgão por volta do DPN 90 (Hermo, L. e Robaire, B., 2002; Rodríguez, 2002).

Aquaporinas e o Epidídimo

Uma das mudanças mais importantes no fluido luminal é induzida pela reabsorção de água, que ocorre principalmente nos ductos eferentes e região proximal do epidídimo, continuando em proporções menores, mas com importância funcional significativa, ao longo deste órgão. A absorção da água promove o aumento da concentração espermática e proteica do ambiente luminal, fatores estes associados às primeiras modificações dos espermatozoides, tais como a migração da gota citoplasmática, início do batimento do flagelo e ligação à zona pelúcida (Dacheux e Dacheux, 2014).

As aquaporinas (AQP) compreendem uma família composta por 13 proteínas hidrofóbicas integrais de membrana, organizadas como tetrâmeros e com massa molecular baixa que varia de 25 a 37 kDa (Preston e Agre, 1991; King *et al.*, 2004; Roche e Tornroth-Horsefield, 2017), que atuam como canais de água aumentando a permeabilidade da membrana celular. Até o momento, seis membros desta família de proteínas têm sido identificadas no epidídimo de rato: AQP1, AQP2, AQP3, AQP5, AQP9 e AQP11 (Agre, 2004; Da Silva *et al.*, 2006; Domeniconi *et al.*, 2008; Schimming *et al.*, 2015; Yeste *et al.*, 2017).

A AQP2 é encontrada na cauda epididimária de ratos machos jovens, mas não em animais adultos, sugerindo sua participação não somente na dinâmica de reabsorção/secreção

no órgão, mas também no desenvolvimento epididimário pós-natal (Da Silva *et al.*, 2006; Arrighi *et al.*, 2010). AQP3 está presente no epidídimo de maneira célula-específica, uma vez que pode ser observada nas células basais epididimárias, mas não nas células principais, claras e estreitas do órgão (Hermo *et al.*, 2004). A AQP5 pode ser observada na membrana apical das células principais epididimárias nas regiões de corpo e cauda, mas encontra-se ausente na região da cabeça do órgão (Da Silva *et al.*, 2006). Em ratos jovens e adultos, a AQP11 é encontrada nos estereocílios das células principais de maneira irregular nas regiões de segmento inicial e cabeça, ausente na região de corpo e de maneira mais uniforme na região distal da cauda do órgão (Hermo *et al.*, 2008).

Com relação à dinâmica de reabsorção/secreção que ocorre no epidídimo, crescentes evidências sugerem as AQP1 e AQP9 como as principais envolvidas no transporte de solutos que ocorre no órgão (Pastor-Soler *et al.*, 2001; Da Silva *et al.*, 2006). A AQP1 é ausente nas células epiteliais do epidídimo, mas é expressa no músculo liso adjacente e em células endoteliais de canais vasculares do órgão (Huang *et al.*, 2006; Domeniconi *et al.*, 2008; Arrighi *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2012). Já a AQP9 está expressa na região apical das células principais do segmento inicial, cabeça, corpo e cauda do epidídimo (Pastor-Soler *et al.*, 2001; Badran e Hermo, 2002; Domeniconi *et al.*, 2008; Hermo *et al.*, 2008) (Figura 2). No epidídimo, a água é transportada a partir do lúmen via AQP9, expressa nos estereocílios das células principais, e então removida do espaço intertubular através da ação das AQP1, expressas nas células endoteliais dos canais vasculares ao longo de todo órgão (Badran e Hermo, 2002).

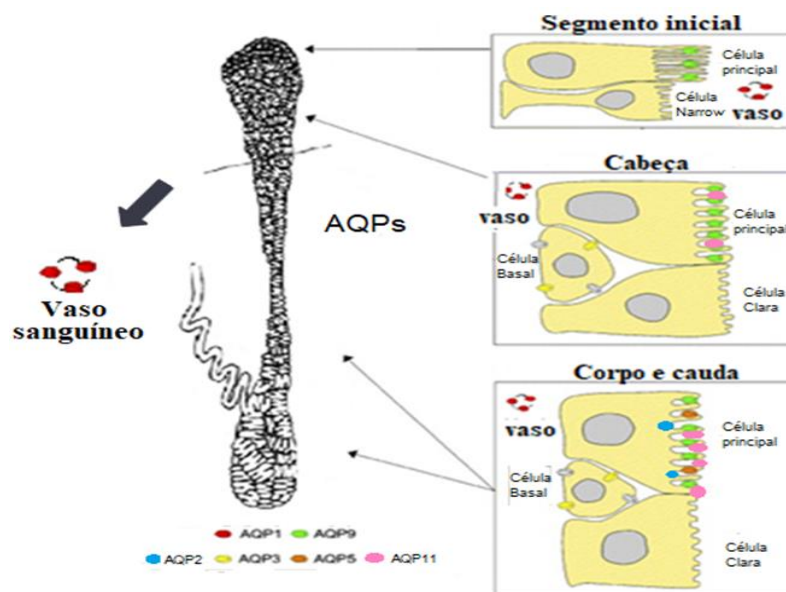


Figura 1 – Representação esquemática da localização das AQP no epidídimo do rato. Fonte: adaptada de Da Silva *et al.* (2006) e Guo *et al.* (2007).

Foi demonstrado que a expressão de AQP9 é modificada pela subnutrição no início da vida. Filhotes cujas mães sofreram restrição alimentar durante a gestação e lactação, apresentaram diminuição na imunomarcação desta proteína nos estereocílios das células principais e completa ausência de imunomarcação nas células claras da cauda de seus epidídimos, prejudicando suas funções e, possivelmente, comprometendo a fertilidade destes animais (Arrighi *et al.*, 2010).

Dessa maneira, investigar os efeitos, especificamente, da restrição proteica materna sobre o padrão de expressão da AQP1 e AQP9 no epidídimo da prole ao longo de seu desenvolvimento é extremamente relevante e promissor.

Hormônios e o Epidídimo

No sistema genital masculino, testículo e epidídimo são os principais alvos da ação androgênica, com a testosterona e seu principal metabólito, a di-hidrotestosterona (obtida pela ação da enzima 5α -redutase), sendo críticas para a manutenção da espermatogênese e da função secretora das células epiteliais epididimárias (Sharpe *et al.*, 1994; Robaire e Hermo, 1998). O fluido testicular que alcança o lúmen epididimário é rico em testosterona e apesar da alta concentração deste hormônio em todo órgão, as concentrações de di-hidrotestosterona são muito maiores no lúmen da cabeça epididimária, indicando maior sensibilidade desta região às possíveis variações na concentração de andrógenos (Turner, 2002).

O *Androgen Receptor* (AR) é membro da super família de receptores esteroidais com peso molecular de 110 kDa que desempenha papel chave na ação dos hormônios andrógenos e seus metabólitos (Chang *et al.*, 1995). A própria expressão de AR é regulada por estes hormônios, e apesar de vários estudos demonstrarem que a regulação androgênica sobre a expressão de AR ocorre de forma tecido e tipo celular específica, os mecanismos pelos quais esta regulação se dá ainda não estão completamente compreendidos (Bentvelsen *et al.*, 1995; Zhu *et al.*, 2000; Ezer e Robaire, 2002). No entanto, sabe-se que a expressão deste receptor ocorre ao longo de todo sistema genital masculino, durante seu desenvolvimento até a idade adulta (Williams *et al.*, 2001).

Zhu *et al.* (2000) através do tratamento com Azalina (antagonista do hormônio liberador do hormônio luteinizante) observaram uma queda da testosterona sérica acompanhada da menor expressão de AR na cabeça, corpo e cauda do epidídimo de ratos. Da mesma maneira, Liu e Wang (2005) observaram que em ratos diabéticos a concentração de testosterona e a expressão

de AR epididimária apresentaram-se diminuídas em relação à ratos saudáveis, demonstrando que a diminuição da testosterona sérica está positivamente relacionada com a diminuição da expressão de AR neste órgão.

Apesar da testosterona ser considerada o principal hormônio regulador das funções epididimárias, o estrogênio também é produzido no macho, sendo encontrado em grandes concentrações no sêmen e desempenhando diversas funções, que incluem a regulação e manutenção das funções epididimárias, principalmente relacionadas à atividade de reabsorção que ocorre neste órgão (Hess *et al.*, 2002).

Em machos imaturos, a principal fonte de estrogênio são as células de Sertoli enquanto que nos adultos, as células germinativas apresentam maior expressão da enzima aromatase p450, responsável pela conversão da testosterona em estradiol, sendo a maior fonte deste esteroide no sistema genital masculino (Nitta *et al.*, 1993; Hess *et al.*, 1995; Janulis *et al.*, 1998).

O estrogênio atua através de dois tipos de receptores nucleares, o *Estrogen Receptor α* (ER α) e *Estrogen Receptor β* (ER β) de aproximadamente 66 e 59 kDa respectivamente, ambos presentes no epidídimo (Kuiper *et al.*, 1996; Pelletier *et al.*, 2000; Zaya *et al.*, 2012).

Dados da literatura revelam que a localização de ER α no epidídimo de ratos ainda é bastante controversa. Alguns estudos demonstram que apesar de estar presente em todo epidídimo, a região da cabeça deste órgão expressa quantidades mais significativas deste receptor, indicando maior sensibilidade desta região aos hormônios estrogênicos, principalmente em relação à reabsorção mais intensa que ocorre na cabeça epididimária (Zhou *et al.*, 2001; Hess *et al.*, 2002; Kolasa *et al.*, 2003; Schon *et al.*, 2009).

Diferente de ER α , que é mais encontrado na região de cabeça do epidídimo, a expressão de ER β aparece distribuída de forma mais homogênea neste órgão (Hess *et al.*, 1997; Hess *et al.*, 2002; Yamashita, 2004; Schon *et al.*, 2009). Sua função no sistema genital masculino permanece alvo de investigações, já que camundongos ER β *knockout* são férteis e apresentam testículos e epidídimos normais (Krege *et al.*, 1998; Couse e Korach, 1999).

Por muitos anos, a aldosterona, sintetizada pelas glândulas adrenais, foi considerada um “hormônio renal”, uma vez que desempenha sua principal função no córtex deste órgão promovendo a retenção do íon sódio (Na⁺) e a eliminação do íon potássio (K⁺), atuando na manutenção do equilíbrio hídrico, eletrolítico e da pressão sanguínea (Nguyen Dinh Cat e Jaisser, 2012; Harvey e Thomas, 2017). No entanto, atualmente se sabe que este mineralocorticoide também desempenha papel na indução do estresse oxidativo, disfunção endotelial, inflamação e fibrose no coração e vasos sanguíneos além de influenciar a função adipócita e a resistência à insulina (Nguyen Dinh Cat e Jaisser, 2012).

Em relação ao papel da aldosterona no sistema genital masculino, mais especificamente no epidídimo, diversos trabalhos demonstram a influência deste hormônio na absorção de líquidos do lúmen epididimário através da captação de Na^+ contra o gradiente eletroquímico, principalmente na cabeça, mas também ao longo de todo órgão, contribuindo assim para uma das principais funções epididimárias: a concentração dos espermatozoides (Wong e Lee, 1982; Turner e Cesarini, 1983; Pearce *et al.*, 1986). Além disso, recentemente foi verificado que a aldosterona circulante também tem participação ativa na regulação da secreção de prótons pelas células claras da cabeça do epidídimo. Identificando o sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) como um importante modulador da acidificação luminal na região proximal do órgão (Roy *et al.*, 2013).

Em roedores, a restrição proteica materna é o modelo mais utilizado para investigar os efeitos da programação fetal no desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta, em particular a hipertensão (Griffin *et al.*, 2001), e um crescente corpo de evidências indica que a aldosterona tem grande contribuição no estabelecimento da pressão elevada na prole (Rocha *et al.*, 1998; Griffin *et al.*, 2001; De Lima *et al.*, 2013). Nesse sentido, trabalhos têm observado e correlacionado a hipertensão e o baixo peso ao nascer com o aumento da aldosterona circulante em modelos de restrição proteica materna (Reynolds *et al.*, 2009; Otani *et al.*, 2012).

Uma vez que a aldosterona está envolvida na absorção de líquidos do lúmen do epidídimo e que a restrição proteica se mostrou eficiente em aumentar os níveis circulantes deste mineralocorticoide, é interessante observar a relação entre a restrição proteica materna com a concentração de aldosterona e seus possíveis efeitos no meio intraluminal epididimário em diferentes estágios do desenvolvimento deste órgão.

Fator de Crescimento Endotelial Vascular e o Epidídimo

Nas glândulas adrenais, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) sérico é capaz de aumentar a disponibilidade de aldosterona na circulação diretamente, através de sua ação sobre as células epiteliais da zona glomerular, ou indiretamente, através da camada endotelial, ambos de maneira renina-independente (Gennari-Moser *et al.*, 2013). Além disso, dados da literatura comprovam a modulação da aldosterona sobre o VEGF, sendo capaz de aumentar ou diminuir sua expressão ou concentração sérica dependendo do tipo celular ou tecido analisado (Ladage *et al.*, 2011; Walczak *et al.*, 2011; Hsu *et al.*, 2015). No entanto, não

existem estudos referentes a influência deste mineralocorticoide sobre a expressão de VEGF no epidídimo e suas consequências para o padrão vascular deste órgão.

No processo de maturação espermática, a regulação do transporte de metabólitos, hormônios e nutrientes, assim como a secreção e reabsorção de fluido luminal no ducto epididimário são muito importantes para manter a especificidade do microambiente deste órgão, requerendo uma vasculatura altamente ramificada para proporcionar suprimento sanguíneo adequado (Setchell *et al.*, 1993; Setchell, 2006). O tratamento do tecido epididimário com VEGF provocou o aumento de vesículas transcitóticas, canais transendoteliais, fenestração dos capilares e indução de lacunas transendoteliais. Tais alterações morfológicas têm sido associadas com o aumento da permeabilidade capilar, sugerindo o VEGF como um importante regulador da permeabilidade vascular no epidídimo, já que este órgão não é local de angiogênese ativa durante a vida adulta (Ergun *et al.*, 1998).

A superexpressão de VEGF, em camundongos transgênicos, resultou em epidídimos alargados e inchados especialmente nas regiões de cabeça e corpo. Além disso, todos os animais transgênicos exibiram hiperproliferação epitelial, dividindo o ducto em vários sublúmens estreitos na região da cauda proximal do epidídimo, sendo que em alguns animais observou-se hiperplasia também na região da cabeça deste órgão (Korpelainen *et al.*, 1998).

A superexpressão do VEGF no epidídimo foi, portanto, associada com o aumento da permeabilidade vascular neste órgão. O aumento da permeabilidade epididimária, especialmente na região da cabeça, pode ter consequências importantes, já que uma porção significativa do fluido luminal do testículo é normalmente reabsorvida pelo epitélio desta região, que se apresenta rodeada por uma densa rede capilar (Setchell, 2006). O inchaço observado no ducto epididimário pode ter sido resultado da alteração na reabsorção do fluido, ou ainda uma consequência da oclusão do ducto pela hiperproliferação do epitélio da região caudal do órgão (Korpelainen *et al.*, 1998).

Tendo tudo isso em mente, levantamos a hipótese de que no modelo de restrição proteica materna, se for comprovado o aumento da aldosterona circulante, e este for acompanhado do aumento do VEGF, estes poderiam ser fatores determinantes para o estabelecimento do padrão vascular e para as alterações funcionais epididimárias, que prejudicam o amadurecimento e a concentração espermática da prole. Além disso, se a restrição proteica provocar mudanças no padrão de expressão das AQP1, em células endoteliais de canais vasculares, e AQP9, as condições do ambiente intraluminal epididimário podem ser alteradas, com impacto sobre a fertilidade desses animais.

Src, Claudinas e o Epidídimo

Foi mencionado anteriormente, que alguns efeitos da restrição proteica são consequências diretas das alterações na disponibilidade de substrato (Godfrey e Barker, 2000). E que durante a gravidez, é recomendado o aumento da ingestão de proteínas devido à necessidade de suprir a demanda adicional de nitrogênio exigida pelo aumento do *turnover* proteico para satisfazer as exigências de crescimento rápido do embrião (Jolly *et al.*, 2004). Nesse sentido, seria interessante também avaliar os efeitos da restrição proteica materna sobre o desenvolvimento do epidídimo através da análise da expressão das proteínas Src e da integridade da barreira hemato-epididimária.

As Src são proteínas quinases não receptoras que atuam em múltiplos ambientes celulares, desempenhando papel chave na regulação da transdução de sinal por um conjunto diverso de receptores de superfície celular (Parsons e Parsons, 2004). Com relação ao epidídimo, as Src se destacam como reguladoras do desenvolvimento epididimário, principalmente da região de segmento inicial. Além disso, essas proteínas desempenham papel importante relacionado às alterações sofridas pelos espermatozoides durante seu processo de maturação no epidídimo (Krapf *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2016).

A atividade da Src é regulada pela fosforilação da tirosina em dois sítios diferentes com efeitos opostos. A fosforilação do Y416 no loop de ativação do domínio quinase promove a ativação da enzima, enquanto a fosforilação de Y527 na cauda carboxi-terminal torna a enzima menos ativa (Xu *et al.*, 1997).

Por fim, a formação e a integridade da barreira hemato-epididimária são essenciais para a manutenção da especificidade do ambiente intraluminal epididimário (Hoffer e Hinton, 1984; Dufresne e Cyr, 2007). Neste contexto, as claudinas (Cldn), que constituem uma família de proteínas transmembranas, são componentes essenciais das junções de oclusão que integram esta barreira (Gregory e Cyr, 2006; Cyr *et al.*, 2007).

Diversas Cldns compõem as junções de oclusão, no entanto, estudos demonstram a presença da Cldn-1 em todas as regiões do epidídimo de rato, não somente compondo a barreira hemato-epididimária como também ao longo de todas as interfaces das células epiteliais adjacentes e em toda extensão da membrana plasmática basal, sugerindo o papel de molécula de adesão para Cldn-1 (Gregory *et al.*, 2001; Dufresne e Cyr, 2007; Kim e Breton, 2016). Além disso, camundongos *knockout* para Cldn-1 morrem de desidratação logo após o nascimento devido a falta da barreira epidérmica, demonstrando assim a imprescindibilidade da Cldn-1 para

a sobrevivência, não podendo ser substituída por nenhuma das outras proteínas de junção de oclusão (Furuse *et al.*, 2002).

Assim, levando ainda em consideração os efeitos diretos da restrição proteica materna, com relação às alterações na disponibilidade de substrato, e as possíveis alterações na expressão de VEGF, AQP1, AQP9 e aumento da permeabilidade vascular do epidídimo, investigamos os efeitos deste modelo experimental sobre a integridade da barreira hemato-epididimária, utilizando como parâmetro de análise o padrão de expressão das Cldn-1 no epidídimo.

Conclusão

Nos filhotes cujas mães tiveram aporte de proteínas limitado, o tamanho reduzido e baixo peso observados ao nascimento se mantiveram até o último dia de coleta (DPN 120), acompanhados da redução dos órgãos do sistema genital masculino para todas as idades analisadas. Demonstrando a importância da qualidade da dieta materna para a prole, e evidenciando que alterações nos componentes desta dieta podem mudar permanentemente o fenótipo do organismo adulto.

A restrição proteica materna mostrou-se capaz de levar a alterações na estrutura ou no funcionamento de órgãos e/ou funções metabólicas do organismo em formação, uma vez que alterou os níveis séricos de testosterona e aldosterona da prole masculina e a expressão de proteínas importantes para o bom funcionamento do epidídimo como os receptores hormonais AR, ER α e ER β , a enzima aromatase p450, as AQP1 e AQP9, o VEGFr-2, as Src 416 e Src 527 e da Cldn-1, além de alterar o padrão vascular do órgão.

Mesmo que algumas destas mudanças não tenham se mantido até a vida adulta, a oferta insuficiente de proteínas no início da vida alterou a estrutura e o funcionamento do epidídimo em períodos importantes do desenvolvimento epididimário pós-natal, o que poderia levar à alterações das funções epididimárias relacionadas à motilidade, viabilidade e concentração espermáticas, contribuindo para o aparecimento de alterações espermáticas previamente observadas por outros autores utilizando este modelo experimental.

Referências

Bibliográficas

AGRE, P. Aquaporin water channels (Nobel Lecture). **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 43, n. 33, p. 4278-90, Aug 20 2004. ISSN 1433-7851 (Print) 1433-7851 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15368374> >.

APARICIO, M. et al. Protein-restricted diets plus keto/amino acids--a valid therapeutic approach for chronic kidney disease patients. **J Ren Nutr**, v. 22, n. 2 Suppl, p. S1-21, Mar 2012. ISSN 1532-8503 (Electronic)1051-2276 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22365371> >.

ARMITAGE, J. A.; TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. **J Physiol**, v. 565, n. Pt 1, p. 3-8, May 15 2005. ISSN 0022-3751 (Print)0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15695245> >.

ARRIGHI, S. et al. Undernutrition during foetal to prepubertal life affects aquaporin 9 but not aquaporins 1 and 2 expression in the male genital tract of adult rats. **Theriogenology**, v. 74, n. 9, p. 1661-9, Dec 2010. ISSN 1879-3231 (Electronic) 0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20708787> >.

BADRAN, H. H.; HERMO, L. S. Expression and regulation of aquaporins 1, 8, and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. **J Androl**, v. 23, n. 3, p. 358-73, May-Jun 2002. ISSN 0196-3635 (Print)0196-3635 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12002438> >.

BALLEN, M. L. et al. [Protein restriction in pregnancy: effects related to dam metabolism]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, n. 1, p. 87-94, Feb 2009. ISSN 1677-9487 (Electronic) 0004-2730 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19347190> >.

BARKER, D. J. P. The Fetal and Infant Origins of Disease. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 25, n. 7, p. 457-463, Jul 1995a. ISSN 0014-2972. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RK26300001 >.

_____. Fetal Origins of Coronary Heart-Disease. **British Medical Journal**, v. 311, n. 6998, p. 171-174, Jul 15 1995b. ISSN 0959-8138. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RK15900026 >.

_____. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 412-417, May 2007. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245610000002 >.

BASARANOGLU, M.; BASARANOGLU, G.; BUGIANESI, E. Carbohydrate intake and nonalcoholic fatty liver disease: fructose as a weapon of mass destruction. **Hepatobiliary Surg Nutr**, v. 4, n. 2, p. 109-16, Apr 2015. ISSN 2304-3881 (Print)2304-3881 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26005677> >.

BATISTA, T. H. et al. Protein malnutrition during pregnancy alters maternal behavior and anxiety-like behavior in offspring. **Nutr Neurosci**, p. 1-6, Apr 28 2016. ISSN 1476-8305 (Electronic) 1028-415X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27122360> >.

BENTVELSEN, F. M. et al. Developmental pattern and regulation by androgens of androgen receptor expression in the urogenital tract of the rat. **Mol Cell Endocrinol**, v. 113, n. 2, p. 245-53, Sep 22 1995. ISSN 0303-7207 (Print) 0303-7207 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8674832> >.

BERENDS, L. M. et al. Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes an insulin-resistant phenotype in adipose tissue. **Int J Obes (Lond)**, v. 37, n. 8, p. 1051-7, Aug 2013. ISSN 1476-5497 (Electronic)0307-0565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23229735> >.

BERTIN, E. et al. Development of beta-cell mass in fetuses of rats deprived of protein and/or energy in last trimester of pregnancy. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 283, n. 3, p. R623-30, Sep 2002. ISSN 0363-6119 (Print)0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12184996> >.

BIRD, A.; MACLEOD, D. Reading the DNA methylation signal. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol**, v. 69, p. 113-8, 2004. ISSN 0091-7451 (Print)0091-7451 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16117639> >.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, May 7 1976. ISSN 0003-2697 (Print)0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051> >.

CAROLAN-OLAH, M.; DUARTE-GARDEA, M.; LECHUGA, J. A critical review: early life nutrition and prenatal programming for adult disease. **J Clin Nurs**, v. 24, n. 23-24, p. 3716-29, Dec 2015. ISSN 1365-2702 (Electronic)0962-1067 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26255862> >.

CARPINELLO, O. J.; DECHERNEY, A. H.; HILL, M. J. Developmental Origins of Health and Disease: The History of the Barker Hypothesis and Assisted Reproductive Technology. **Semin Reprod Med**, v. 36, n. 3-04, p. 177-182, May 2018. ISSN 1526-4564 (Electronic)1526-4564 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30866004> >.

CHANG, C. et al. Androgen receptor: an overview. **Crit Rev Eukaryot Gene Expr**, v. 5, n. 2, p. 97-125, 1995. ISSN 1045-4403 (Print)1045-4403 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8845584> >.

CHERALA, G.; SHAPIRO, B. H.; D'MELLO A, P. Two low protein diets differentially affect food consumption and reproductive performance in pregnant and lactating rats and long-term growth in their offspring. **J Nutr**, v. 136, n. 11, p. 2827-33, Nov 2006. ISSN 0022-3166 (Print)0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17056808> >.

CLAYCOMBE, K. J. et al. Maternal low-protein diet causes body weight loss in male, neonate Sprague-Dawley rats involving UCP-1-mediated thermogenesis. **J Nutr Biochem**, v. 26, n. 7, p. 729-35, Jul 2015. ISSN 1873-4847 (Electronic)0955-2863 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25858881> >.

COLOMBELLI, K. T. et al. Impairment of microvascular angiogenesis is associated with delay in prostatic development in rat offspring of maternal protein malnutrition. **Gen Comp Endocrinol**, v. 246, p. 258-269, May 15 2017. ISSN 1095-6840 (Electronic)0016-6480 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28041790> >.

CONSOLE, G. M. et al. Morphometric and ultrastructural analysis of different pituitary cell populations in undernourished monkeys. **Braz J Med Biol Res**, v. 34, n. 1, p. 65-74, Jan 2001. ISSN 0100-879X (Print)0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11151030> >.

COSENTINO, M. J.; COCKETT, A. T. K. Structure and Function of the Epididymis. **Urological Research**, v. 14, n. 5, p. 229-240, 1986. ISSN 0300-5623. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1986E689600002 >.

COUSE, J. F.; KORACH, K. S. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? **Endocr Rev**, v. 20, n. 3, p. 358-417, Jun 1999. ISSN 0163-769X (Print)0163-769X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10368776> >.

CYR, D. G. et al. Orchestration of occludins, claudins, catenins and cadherins as players involved in maintenance of the blood-epididymal barrier in animals and humans. **Asian J Androl**, v. 9, n. 4, p. 463-75, Jul 2007. ISSN 1008-682X (Print)1008-682X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17589783> >.

DA SILVA, N. et al. Segmental and cellular expression of aquaporins in the male excurrent duct. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1758, n. 8, p. 1025-1033, Aug 2006. ISSN 0005-2736. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000241272900008 >.

DACHEUX, J. L.; DACHEUX, F. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. **Reproduction**, v. 147, n. 2, p. R27-42, Feb 2014. ISSN 1741-7899 (Electronic)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24218627> >.

DE LIMA, M. C. et al. Early changes of hypothalamic angiotensin II receptors expression in gestational protein-restricted offspring: effect on water intake, blood pressure and renal sodium handling. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v. 14, n. 3, p. 271-82, Sep 2013. ISSN 1752-8976 (Electronic)1470-3203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22936038> >.

DE MIGUEL, C.; LUND, H.; MATTSON, D. L. High dietary protein exacerbates hypertension and renal damage in Dahl SS rats by increasing infiltrating immune cells in the kidney. **Hypertension**, v. 57, n. 2, p. 269-74, Feb 2011. ISSN 1524-4563 (Electronic)0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21173345> >.

DESAI, M. et al. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. **Br J Nutr**, v. 76, n. 4, p. 591-603, Oct 1996. ISSN 0007-1145 (Print)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8942365> >.

DOMENICONI, R. F. et al. Immunolocalization of aquaporins 1, 2 and 7 in rete testis, efferent ducts, epididymis and vas deferens of adult dog. **Cell Tissue Res**, v. 332, n. 2, p. 329-35, May 2008. ISSN 0302-766X (Print)0302-766X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18340467> >.

DUFRESNE, J.; CYR, D. G. Activation of an SP binding site is crucial for the expression of claudin 1 in rat epididymal principal cells. **Biol Reprod**, v. 76, n. 5, p. 825-32, May 2007. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17251524> >.

ERGUN, S. et al. Functional expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptors in the human epididymis. **Biol Reprod**, v. 58, n. 1, p. 160-8, Jan 1998. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9472937> >.

EZER, N.; ROBAIRE, B. Androgenic Regulation of the Structure and Functions of the Epididymis. In: ROBAIRE, B. H., B. T. (Ed.). **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers v.1, 2002. cap. 17, p.297-316. ISBN 0-306-46684-8.

FLEMING, T. P. et al. Do little embryos make big decisions? How maternal dietary protein restriction can permanently change an embryo's potential, affecting adult health. **Reproduction Fertility and Development**, v. 27, n. 4, p. 684-692, 2015. ISSN 1031-3613. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000353147100012 >.

FRANCA, L. R.; AVELAR, G. F.; ALMEIDA, F. F. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**, v. 63, n. 2, p. 300-18, Jan 15 2005. ISSN 0093-691X (Print)0093-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15626401> >.

FURUSE, M. et al. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. **J Cell Biol**, v. 156, n. 6, p. 1099-111, Mar 18 2002. ISSN 0021-9525 (Print)0021-9525 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11889141> >.

GAO, H. et al. Appetite regulation is independent of the changes in ghrelin levels in pregnant rats fed low-protein diet. **Physiological Reports**, v. 3, n. 4, p. 12, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Appetite+regulation+is+independent+of+the+changes+in+ghrelin+levels+in+pregnant+rats+fed+low-protein+diet> >.

GAO, H.; YALLAMPALLI, U.; YALLAMPALLI, C. Gestational protein restriction reduces expression of Hsd17b2 in rat placental labyrinth. **Biol Reprod**, v. 87, n. 3, p. 68, Sep 2012. ISSN 1529-7268 (Electronic)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22837477> >.

GAO, X. et al. Low-protein diet supplemented with ketoacids reduces the severity of renal disease in 5/6 nephrectomized rats: a role for KLF15. **Kidney Int**, v. 79, n. 9, p. 987-96, May 2011. ISSN 1523-1755 (Electronic)0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21248717> >.

GAO, X. et al. A low-protein diet supplemented with ketoacids plays a more protective role against oxidative stress of rat kidney tissue with 5/6 nephrectomy than a low-protein diet alone. **British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 4, p. 9, Feb 2010 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=A+low-protein+diet+supplemented+with+ketoacids+plays+a+more+protective+role+against+oxidative+stress+of+rat+kidney+tissue+with+5%2F6+nephrectomy+than+a+low-protein+diet+alone> >.

GATTI, J. L. et al. Post-testicular sperm environment and fertility. **Anim Reprod Sci**, v. 82-83, p. 321-39, Jul 2004. ISSN 0378-4320 (Print)0378-4320 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15271463> >.

GENNARI-MOSER, C. et al. Vascular endothelial growth factor-A and aldosterone: relevance to normal pregnancy and preeclampsia. **Hypertension**, v. 61, n. 5, p. 1111-7, May 2013. ISSN 1524-4563 (Electronic)0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23460276> >.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The consequences of being born small - An adaptive perspective. **Hormone Research**, v. 65, p. 5-14, 2006. ISSN 0301-0163. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237276900002 >.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. Fetal nutrition and adult disease. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 5 Suppl, p. 1344S-52S, May 2000. ISSN 0002-9165 (Print)0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10799412> >.

GODFREY, K. M.; COSTELLO, P. M.; LILLYCROP, K. A. The developmental environment, epigenetic biomarkers and long-term health. **J Dev Orig Health Dis**, p. 1-8, May 28 2015. ISSN 2040-1752 (Electronic)2040-1744 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26017068> >.

GONZALEZ, P. N. et al. Chronic Protein Restriction in Mice Impacts Placental Function and Maternal Body Weight before Fetal Growth. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0152227, 2016. ISSN 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27018791> >.

GREGORY, M.; CYR, D. G. Identification of multiple claudins in the rat epididymis. **Mol Reprod Dev**, v. 73, n. 5, p. 580-8, May 2006. ISSN 1040-452X (Print)1040-452X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16489631> >.

GREGORY, M. et al. Claudin-1 is not restricted to tight junctions in the rat epididymis. **Endocrinology**, v. 142, n. 2, p. 854-863, Feb 2001. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000166747700041 >.

GRIFFIN, K. A. et al. Differential salt-sensitivity in the pathogenesis of renal damage in SHR and stroke prone SHR. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n. 4, p. 311-320, Apr 2001. ISSN 0895-7061. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000168211200002 >.

GRIFFIN, K. A. et al. Low protein diet mediated renoprotection in remnant kidneys: Renal autoregulatory versus hypertrophic mechanisms. **Kidney Int**, v. 63, n. 2, p. 607-16, Feb 2003. ISSN 0085-2538 (Print)0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12631125> >.

GRISSOM, N.; BOWMAN, N.; REYES, T. M. Epigenetic programming of reward function in offspring: a role for maternal diet. **Mammalian Genome**, v. 25, n. 1-2, p. 41-48, Feb 2014. ISSN 0938-8990. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000330980400006 >.

GUO, W. et al. Identification and characterization of ERp29 in rat spermatozoa during epididymal transit. **Reproduction**, v. 133, n. 3, p. 575-84, Mar 2007. ISSN 1470-1626 (Print)1470-1626 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17379652> >.

GUZMAN, C. et al. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. **J Physiol**, v. 572, n. Pt 1, p. 97-108, Apr 1 2006. ISSN 0022-3751 (Print)0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16497715> >.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, n. 7, p. 595-601, Jul 1992. ISSN 0012-186X (Print)0012-186X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1644236> >.

_____. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. 1992. **Int J Epidemiol**, v. 42, n. 5, p. 1215-22, Oct 2013. ISSN 1464-3685 (Electronic)0300-5771 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24159065> >.

HARVEY, B. J.; THOMAS, W. Aldosterone-induced protein kinase signalling and the control of electrolyte balance. **Steroids**, Oct 24 2017. ISSN 1878-5867 (Electronic)0039-128X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29079406> >.

HERMO, L.; KRZECZUNOWICZ, D.; RUZ, R. Cell specificity of aquaporins 0, 3, and 10 expressed in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats. **J Androl**, v. 25, n. 4, p. 494-505, Jul-Aug 2004. ISSN 0196-3635 (Print)0196-3635 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15223838> >.

HERMO, L.; ROBAIRE, B. Epididymal cell types and their functions. In: ROBAIRE B.; HINTON, B. T. (Ed.). **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher, v.1, 2002. cap. 5, p.81-102.

HERMO, L.; ROBAIRE, B. Epididymal cell types and their functions. In: ROBAIRE B.; HINTON, B. T. (Ed.). **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher, v.1, 2002. cap. 5, p.81-102.

HERMO, L. et al. Membrane domain specificity in the spatial distribution of aquaporins 5, 7, 9, and 11 in efferent ducts and epididymis of rats. **J Histochem Cytochem**, v. 56, n. 12, p. 1121-35, Dec 2008. ISSN 0022-1554 (Print)0022-1554 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18796408> >.

HERRING, C. M. et al. Impacts of maternal dietary protein intake on fetal survival, growth, and development. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 243, n. 6, p. 525-533, Mar 2018. ISSN 1535-3699 (Electronic)1535-3699 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29466875> >.

HESS, R. A.; BUNICK, D.; BAHR, J. M. Sperm, a source of estrogen. **Environ Health Perspect**, v. 103 Suppl 7, p. 59-62, Oct 1995. ISSN 0091-6765 (Print)0091-6765 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8593876> >.

HESS, R. A. et al. Estrogen receptor (alpha and beta) expression in the excurrent ducts of the adult male rat reproductive tract. **J Androl**, v. 18, n. 6, p. 602-11, Nov-Dec 1997. ISSN 0196-3635 (Print)0196-3635 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9432133> >.

HESS, R. A.; ZHOU, Q.; NIE, R. The role of estrogens in the endocrine and paracrine regulation of the efferent ductules, epididymis and vas deferens. In: ROBAIRE, B. H., B. T. (Ed.). **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers v.1, 2002. cap. 18, p.317-337. ISBN 0-306-46684-8.

HINTON, B. T. et al. How do you get six meters of epididymis inside a human scrotum? **J Androl**, v. 32, n. 6, p. 558-64, Nov-Dec 2011. ISSN 1939-4640 (Electronic)0196-3635 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21441421> >.

HOFFER, A. P.; HINTON, B. T. Morphological evidence for a blood-epididymis barrier and the effects of gossypol on its integrity. **Biol Reprod**, v. 30, n. 4, p. 991-1004, May 1984. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6733204> >.

HSU, S. J. et al. The Impact of Spironolactone on the Severity of Portal-Systemic Collaterals and Hepatic Encephalopathy in Cirrhotic Rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 355, n. 1, p. 117-24, Oct 2015. ISSN 1521-0103 (Electronic)0022-3565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26260462> >.

HUANG, H. F. et al. Function of aquaporins in female and male reproductive systems. **Hum Reprod Update**, v. 12, n. 6, p. 785-95, Nov-Dec 2006. ISSN 1355-4786 (Print)1355-4786 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16840793> >.

IMDAD, A.; BHUTTA, Z. A. Maternal nutrition and birth outcomes: effect of balanced protein-energy supplementation. **Paediatr Perinat Epidemiol**, v. 26 Suppl 1, p. 178-90, Jul 2012. ISSN 1365-3016 (Electronic)0269-5022 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22742610> >.

JANULIS, L. et al. Rat testicular germ cells and epididymal sperm contain active P450 aromatase. **J Androl**, v. 19, n. 1, p. 65-71, Jan-Feb 1998. ISSN 0196-3635 (Print)0196-3635 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9537293> >.

JAZWIEC, P. A.; SLOBODA, D. M. Nutritional adversity, sex and reproduction: 30 years of DOHaD and what have we learned? **J Endocrinol**, v. 242, n. 1, p. T51-T68, Jul 1 2019. ISSN 1479-6805 (Electronic)0022-0795 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31013473> >.

JIANG, X.; WEST, A. A.; CAUDILL, M. A. Maternal choline supplementation: a nutritional approach for improving offspring health? **Trends Endocrinol Metab**, v. 25, n. 5, p. 263-73, May 2014. ISSN 1879-3061 (Electronic)1043-2760 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24680198> >.

JOLLY, M. et al. Increased leucine turnover in women during the third trimester of uncomplicated pregnancy. **Metabolism**, v. 53, n. 5, p. 545-9, May 2004. ISSN 0026-0495 (Print)0026-0495 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15131755> >.

JOSEPH, A.; YAO, H.; HINTON, B. T. Development and morphogenesis of the Wolffian/epididymal duct, more twists and turns. **Dev Biol**, v. 325, n. 1, p. 6-14, Jan 1 2009. ISSN 1095-564X (Electronic)0012-1606 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18992735> >.

JUNQUEIRA, L. C. C., J. Aparelho Reprodutor Masculino. In: JUNQUEIRA, L. C. C., J. (Ed.). **Histologia Básica**. 11. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1, 2011. p.415-431.

KIM, B.; BRETON, S. The MAPK/ERK-Signaling Pathway Regulates the Expression and Distribution of Tight Junction Proteins in the Mouse Proximal Epididymis. **Biol Reprod**, v. 94, n. 1, p. 22, Jan 2016. ISSN 1529-7268 (Electronic)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26658708> >.

KING, L. S.; KOZONO, D.; AGRE, P. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 5, n. 9, p. 687-98, Sep 2004. ISSN 1471-0072 (Print)1471-0072 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15340377> >.

KOLASA, A. et al. Localisation of oestrogen receptors (ERalpha and ERbeta) in the human and rat epididymides. **Folia Morphol (Warsz)**, v. 62, n. 4, p. 467-9, Nov 2003. ISSN 0015-5659 (Print)0015-5659 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14655143> >.

KORPELAINE, E. I. et al. Overexpression of VEGF in testis and epididymis causes infertility in transgenic mice: evidence for nonendothelial targets for VEGF. **J Cell Biol**, v. 143, n. 6, p. 1705-12, Dec 14 1998. ISSN 0021-9525 (Print)0021-9525 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9852161> >.

KOZLOWSKA, L.; ROSOŁOWSKA-HUSZCZ, D.; RYDZEWSKI, A. Low protein diet causes a decrease in serum concentrations of leptin and tumour necrosis factor-alpha in patients with conservatively treated chronic renal failure. **Nephrology (Carlton)**, v. 9, n. 5, p. 319-24, Oct 2004. ISSN 1320-5358 (Print)1320-5358 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15504146> >.

KRAPF, D. et al. cSrc is necessary for epididymal development and is incorporated into sperm during epididymal transit. **Developmental Biology**, v. 369, n. 1, p. 43-53, Sep 1 2012. ISSN 0012-1606. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000307368600004 >.

KREGE, J. H. et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 95, n. 26, p. 15677-82, Dec 22 1998. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9861029> >.

KUIPER, G. G. et al. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 93, n. 12, p. 5925-30, Jun 11 1996. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8650195> >.

KWON, D. H. et al. Dietary protein restriction induces steatohepatitis and alters leptin/signal transducers and activators of transcription 3 signaling in lactating rats. **J Nutr Biochem**, v. 23, n. 7, p. 791-9, Jul 2012. ISSN 1873-4847 (Electronic)0955-2863 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21840192> >.

LADAGE, D. et al. Hyperaldosteronism is associated with a decrease in number and altered growth factor expression of endothelial progenitor cells in rats. **Int J Cardiol**, v. 149, n. 2, p. 152-156, Jun 2 2011. ISSN 1874-1754 (Electronic)0167-5273 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20116868> >.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680-5, Aug 15 1970. ISSN 0028-0836 (Print)0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5432063> >.

LE CLAIR, C. et al. Impact of maternal undernutrition on diabetes and cardiovascular disease risk in adult offspring. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 87, n. 3, p. 161-179, Mar 2009. ISSN 0008-4212. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000265605900002 >.

LEE, H. S. Impact of Maternal Diet on the Epigenome during In Utero Life and the Developmental Programming of Diseases in Childhood and Adulthood. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9492-507, Nov 17 2015. ISSN 2072-6643 (Electronic)2072-6643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26593940> >.

LINDSAY, K. L. et al. The Interplay Between Nutrition and Stress in Pregnancy: Implications for Fetal Programming of Brain Development. **Biol Psychiatry**, v. 85, n. 2, p. 135-149, Jan 15 2019. ISSN 1873-2402 (Electronic)0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30057177> >.

LIU, S. H.; WANG, Z. S. [Study on the expression of androgen receptor in testis, epididymis and prostate of adult rats with diabetes]. **Zhonghua Nan Ke Xue**, v. 11, n. 12, p. 891-4, Dec 2005. ISSN 1009-3591 (Print)1009-3591 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16398356> >.

LUCAS, A. Programming by Early Nutrition in Man. **Ciba Foundation Symposia**, v. 156, p. 38-55, 1991. ISSN 0300-5208. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1991FE85700004 >.

_____. Programming by early nutrition: An experimental approach. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 2, p. 401s-406s, Feb 1998. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000072171800028 >.

MARTIN-GRONERT, M. S.; OZANNE, S. E. Experimental IUGR and later diabetes. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 437-452, May 2007. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245610000005 >.

_____. Mechanisms Linking Suboptimal Early Nutrition and Increased Risk of Type 2 Diabetes and Obesity. **Journal of Nutrition**, v. 140, n. 3, p. 662-666, Mar 2010. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000274807800035 >.

MASUYAMA, H.; HIRAMATSU, Y. Effects of a High-Fat Diet Exposure in Utero on the Metabolic Syndrome-Like Phenomenon in Mouse Offspring through Epigenetic Changes in Adipocytokine Gene Expression. **Endocrinology**, v. 153, n. 6, p. 2823-2830, Jun 2012. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304370700032 >.

MCARDLE, H. J. et al. Fetal programming: Causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats - A review. **Placenta**, v. 27, p. S56-S60, Apr 2006. ISSN 0143-4004. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237438900013 >.

MEIRELES, C. L. et al. Nutrition and chronic renal failure in rats: what is an optimal dietary protein? **J Am Soc Nephrol**, v. 10, n. 11, p. 2367-73, Nov 1999. ISSN 1046-6673 (Print)1046-6673 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10541296> >.

MEYER, K.; ZHANG, L. B. Fetal programming of cardiac function and disease. **Reproductive Sciences**, v. 14, n. 3, p. 209-216, Apr 2007. ISSN 1933-7191. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000246884500004 >.

MINO, M. et al. Effects of low protein intake on the development of the remaining kidney in subtotaly nephrectomized immature rats: expression of inducible and endothelial NO synthase. **Medical Molecular Morphology**, v. 43, n. 2, p. 116-122, Jun 2010. ISSN 1860-1480. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000280641200010 >.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia Básica**. 9. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. ISBN 978-85-352-8499-7.

NAISMITH, D. J.; MORGAN, B. L. The biphasic nature of protein metabolism during pregnancy in the rat. **Br J Nutr**, v. 36, n. 3, p. 563-6, Nov 1976. ISSN 0007-1145 (Print)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1009078> >.

NAISMITH, D. J.; RICHARDSON, D. P.; PRITCHARD, A. E. The utilization of protein and energy during lactation in the rat, with particular regard to the use of fat accumulated in pregnancy. **Br J Nutr**, v. 48, n. 2, p. 433-41, Sep 1982. ISSN 0007-1145 (Print)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7115665> >.

NGUYEN DINH CAT, A.; JAISSE, F. Extrarenal effects of aldosterone. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 21, n. 2, p. 147-56, Mar 2012. ISSN 1473-6543 (Electronic)1062-4821 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22240440> >.

NITTA, H. et al. Germ cells of the mouse testis express P450 aromatase. **Endocrinology**, v. 132, n. 3, p. 1396-401, Mar 1993. ISSN 0013-7227 (Print)0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8440194> >.

O'DOWD, R. et al. Effects of uteroplacental insufficiency and reducing litter size on maternal mammary function and postnatal offspring growth. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 294, n. 2, p. R539-48, Feb 2008. ISSN 0363-6119 (Print)0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18077510> >.

OOI, E. M. et al. Dietary fatty acids and lipoprotein metabolism: new insights and updates. **Curr Opin Lipidol**, v. 24, n. 3, p. 192-7, Jun 2013. ISSN 1473-6535 (Electronic)0957-9672 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23619368> >.

OTANI, L. et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in the enhancement of salt sensitivity caused by prenatal protein restriction in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **J Nutr Biochem**, v. 23, n. 8, p. 892-9, Aug 2012. ISSN 1873-4847 (Electronic)0955-2863 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21937213> >.

OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. **Nature**, v. 427, n. 6973, p. 411-2, Jan 29 2004. ISSN 1476-4687 (Electronic)0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14749819> >.

OZANNE, S. E.; NICHOLAS HALES, C. Poor fetal growth followed by rapid postnatal catch-up growth leads to premature death. **Mech Ageing Dev**, v. 126, n. 8, p. 852-4, Aug 2005. ISSN 0047-6374 (Print)0047-6374 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15992609> >.

PAINTER, R. C.; ROSEBOOM, T. J.; BLEKER, O. P. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. **Reprod Toxicol**, v. 20, n. 3, p. 345-52, Sep-Oct 2005. ISSN 0890-6238 (Print)0890-6238 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15893910> >.

PARIMI, P. S.; CRIPE-MAMIE, C.; KALHAN, S. C. Metabolic responses to protein restriction during pregnancy in rat and translation initiation factors in the mother and fetus. **Pediatr Res**, v. 56, n. 3, p. 423-31, Sep 2004. ISSN 0031-3998 (Print)0031-3998 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15240862> >.

PARSONS, S. J.; PARSONS, J. T. Src family kinases, key regulators of signal transduction. **Oncogene**, v. 23, n. 48, p. 7906-9, Oct 18 2004. ISSN 0950-9232 (Print)0950-9232 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15489908> >.

PASTOR-SOLER, N. et al. Aquaporin 9 expression along the male reproductive tract. **Biol Reprod**, v. 65, n. 2, p. 384-93, Aug 2001. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11466204> >.

PEARCE, P. T.; LIPKEVICIUS, O. R.; FUNDER, J. W. High affinity (type 1) aldosterone-binding sites in rat epididymis. **Endocrinology**, v. 118, n. 5, p. 2072-5, May 1986. ISSN 0013-7227 (Print)0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2938934> >.

PEIXOTO-SILVA, N. et al. Maternal protein restriction in mice causes adverse metabolic and hypothalamic effects in the F1 and F2 generations. **Br J Nutr**, v. 106, n. 9, p. 1364-73, Nov 2011. ISSN 1475-2662 (Electronic)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21736811> >.

PELLETIER, G.; LABRIE, C.; LABRIE, F. Localization of oestrogen receptor alpha, oestrogen receptor beta and androgen receptors in the rat reproductive organs. **J Endocrinol**, v. 165, n. 2, p. 359-70, May 2000. ISSN 0022-0795 (Print)0022-0795 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10810300> >.

PINE, A. P.; JESSOP, N. S.; OLDHAM, J. D. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. 3. The effects of dietary protein restriction and stage of lactation on milk composition. **Br J Nutr**, v. 72, n. 6, p. 815-30, Dec 1994. ISSN 0007-1145 (Print)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7827003> >.

PRESTON, G. M.; AGRE, P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 88, n. 24, p. 11110-4, Dec 15 1991. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1722319> >.

QASEM, R. J. et al. Elucidation of thrifty features in adult rats exposed to protein restriction during gestation and lactation. **Physiol Behav**, v. 105, n. 5, p. 1182-93, Mar 20 2012. ISSN 1873-507X (Electronic)0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22210394> >.

REBELATO, H. J. et al. Gestational protein restriction induces alterations in placental morphology and mitochondrial function in rats during late pregnancy. **J Mol Histol**, v. 44, n. 6, p. 629-37, Dec 2013. ISSN 1567-2387 (Electronic)1567-2379 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23884563> >.

REES, W. D. et al. The effects of maternal protein restriction on the growth of the rat fetus and its amino acid supply. **Br J Nutr**, v. 81, n. 3, p. 243-50, Mar 1999. ISSN 0007-1145 (Print)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10434851> >.

REYNOLDS, R. M. et al. Programming of hypertension: associations of plasma aldosterone in adult men and women with birthweight, cortisol, and blood pressure. **Hypertension**, v. 53, n. 6, p. 932-6, Jun 2009. ISSN 1524-4563 (Electronic)0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19380612> >.

RINALDI, J. C. et al. Maternal protein malnutrition: effects on prostate development and adult disease. **J Dev Orig Health Dis**, v. 9, n. 4, p. 361-372, Aug 2018. ISSN 2040-1752 (Electronic)2040-1744 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29582717> >.

ROBAIRE, B.; HERMO, L. Eferente ducts, epididymis , and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In: KNOBIL, E. N., J. (Ed.). **The Physiology of Reproduction**. New York: Raven Press, v.1, 1998. p.999-1080.

ROBAIRE, B.; HINTON, B. T.; ORGEBIN-CRIST, M. C. The Epididymis. In: NEILL, J. D. (Ed.). **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. San Diego - California: Elsevier Academic Press, v.1, 2006. cap. 22, p.1071-1148.

ROBAIRE B.; HINTON, B. T. The Epididymis. In: PLANT, T. M. Z., A. J. (Ed.). **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. Fourth Edition. New York: Academic Press, v.2, 2015. cap. 17, p.691-771.

ROCHA, R. et al. Mineralocorticoid blockade reduces vascular injury in stroke-prone hypertensive rats. **Hypertension**, v. 31, n. 1 Pt 2, p. 451-8, Jan 1998. ISSN 0194-911X (Print)0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9453344> >.

ROCHE, J. V.; TORNROTH-HORSEFIELD, S. Aquaporin Protein-Protein Interactions. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 11, Oct 27 2017. ISSN 1422-0067 (Electronic)1422-0067 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29077056> >.

RODRIGUEZ-GONZALEZ, G. L. et al. Accelerated aging of reproductive capacity in male rat offspring of protein-restricted mothers is associated with increased testicular and sperm oxidative stress. **Age**, v. 36, n. 6, Dec 2014. ISSN 0161-9152. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000346770900003 >.

RODRIGUEZ-GONZALEZ, G. L. et al. Maternal protein restriction in pregnancy and/or lactation affects seminiferous tubule organization in male rat offspring. **J Dev Orig Health Dis**, v. 3, n. 5, p. 321-6, Oct 2012. ISSN 2040-1752 (Electronic)2040-1744 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25102260> >.

RODRÍGUEZ, C. M. K., J. L.; HINTON, B. T. The Development of the Epididymis. In: ROBAIRE, B. H., B. T. (Ed.). **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, v.1, 2002. cap. 14, p.251-268. ISBN 0-306-46684-8.

ROSEBOOM, T. J. et al. Hungry in the womb: what are the consequences? Lessons from the Dutch famine. **Maturitas**, v. 70, n. 2, p. 141-5, Oct 2011. ISSN 1873-4111 (Electronic)0378-5122 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21802226> >.

ROTHHAMMER, T.; BOSSERHOFF, A. K. Epigenetic events in malignant melanoma. **Pigment Cell Res**, v. 20, n. 2, p. 92-111, Apr 2007. ISSN 0893-5785 (Print)0893-5785 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17371436> >.

ROY, J. W. et al. Circulating aldosterone induces the apical accumulation of the proton pumping V-ATPase and increases proton secretion in clear cells in the caput epididymis. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 305, n. 4, p. C436-46, Aug 15 2013. ISSN 1522-1563 (Electronic)0363-6143 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23761626> >.

SANTOS, S. A. A. et al. Maternal Low Protein Diet Impairs Prostate Growth in Young Rat Offspring and Induces Prostate Carcinogenesis with Aging. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, May 14 2018. ISSN 1758-535X (Electronic)1079-5006 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29762647> >.

SATHISHKUMAR, K. et al. Protein restriction during pregnancy induces hypertension in adult female rat offspring--influence of oestradiol. **Br J Nutr**, v. 107, n. 5, p. 665-73, Mar 2012. ISSN 1475-2662 (Electronic)0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21787449> >.

SCHAGDARSURENGIN, U.; STEGER, K. Epigenetics in male reproduction: effect of paternal diet on sperm quality and offspring health. **Nat Rev Urol**, v. 13, n. 10, p. 584-95, Oct 2016. ISSN 1759-4820 (Electronic)1759-4812 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27578043> >.

SCHIMMING, B. C. et al. Immunolocalization of Aquaporins 1 and 9 in the Ram Efferent Ducts and Epididymis. **Reprod Domest Anim**, v. 50, n. 4, p. 617-24, Aug 2015. ISSN 1439-0531 (Electronic)0936-6768 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25976237> >.

SCHON, J. et al. Localization of oestrogen receptors in the epididymis during sexual maturation of the domestic cat. **Reprod Domest Anim**, v. 44 Suppl 2, p. 294-301, Jul 2009. ISSN 1439-0531 (Electronic)0936-6768 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19754590> >.

SEBERT, S. et al. The early programming of metabolic health: is epigenetic setting the missing link? **Am J Clin Nutr**, v. 94, n. 6 Suppl, p. 1953S-1958S, Dec 2011. ISSN 1938-3207 (Electronic)0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21543542> >.

SEMBA, R. D. The Rise and Fall of Protein Malnutrition in Global Health. **Ann Nutr Metab**, v. 69, n. 2, p. 79-88, 2016. ISSN 1421-9697 (Electronic)0250-6807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27576545> >.

SENE LDE, B. et al. Involvement of renal corpuscle microRNA expression on epithelial-to-mesenchymal transition in maternal low protein diet in adult programmed rats. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e71310, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23977013> >.

SERRE, V.; ROBAIRE, B. Segment-specific morphological changes in aging Brown Norway rat epididymis. **Biol Reprod**, v. 58, n. 2, p. 497-513, Feb 1998. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9475407> >.

SETCHELL, B. P. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: KNOBIL, E. N., J. D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. 3. New York: New York, v.1, 2006. cap. 17, p.771-825.

SETCHELL, B. P.; SANCHEZPARTIDA, L. G.; CHAIRUSSYUHUR, A. Epididymal Constituents and Related Substances in the Storage of Spermatozoa - a Review. **Reproduction Fertility and Development**, v. 5, n. 6, p. 601-612, 1993. ISSN 1031-3613. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1993MY98000004 >.

SHARPE, R. M. et al. Temporal relationship between androgen-dependent changes in the volume of seminiferous tubule fluid, lumen size and seminiferous tubule protein secretion in rats. **J Reprod Fertil**, v. 101, n. 1, p. 193-8, May 1994. ISSN 0022-4251 (Print)0022-4251 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8064681> >.

SHUM, W. W. et al. Regulation of luminal acidification in the male reproductive tract via cell-cell crosstalk. **J Exp Biol**, v. 212, n. Pt 11, p. 1753-61, Jun 2009. ISSN 0022-0949 (Print)0022-0949 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19448084> >.

SLOMOWITZ, L. A. et al. Protein intake regulates the vasodilatory function of the kidney and NMDA receptor expression. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 287, n. 5, p. R1184-9, Nov 2004. ISSN 0363-6119 (Print)0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15242825> >.

SOFTIC, S.; COHEN, D. E.; KAHN, C. R. Role of Dietary Fructose and Hepatic De Novo Lipogenesis in Fatty Liver Disease. **Dig Dis Sci**, v. 61, n. 5, p. 1282-93, May 2016. ISSN 1573-2568 (Electronic)0163-2116 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26856717> >.

STOCKER, C. J.; ARCH, J. R. S.; CAWTHORNE, M. A. Fetal origins of insulin resistance and obesity. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 64, n. 2, p. 143-151, May 2005. ISSN 0029-6651. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000229743100002 >.

TEIXEIRA, G. R. et al. The expression of aquaporins 1 and 9 in adult rat epididymis is perturbed by chronic exposure to ethanol. **Tissue & Cell**, v. 44, n. 1, p. 47-53, Feb 2012. ISSN 0040-8166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000321558200006 >.

TOLEDO, F. C. et al. In utero protein restriction causes growth delay and alters sperm parameters in adult male rats. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 9, Jun 24 2011. ISSN 1477-7827. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000292939400001 >.

TORRES, N. et al. Protein restriction during pregnancy affects maternal liver lipid metabolism and fetal brain lipid composition in the rat. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 298, n. 2, p. E270-7, Feb 2010. ISSN 1522-1555 (Electronic)0193-1849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19920218> >.

TURNER, T. T. Necessity's Potion: Inorganic Ions and Small Organic Molecules in the Epididymal Lumen. In: ROBAIRE, B. H., B. T. (Ed.). **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers v.1, 2002. cap. 8, p.131-150. ISBN 0-306-46684-8.

TURNER, T. T.; CESARINI, D. M. The ability of the rat epididymis to concentrate spermatozoa. Responsiveness to aldosterone. **J Androl**, v. 4, n. 3, p. 197-202, May-Jun 1983. ISSN 0196-3635 (Print)0196-3635 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6874561> >.

WALCZAK, C. et al. Aldosterone increases VEGF-A production in human neutrophils through PI3K, ERK1/2 and p38 pathways. **Biochim Biophys Acta**, v. 1813, n. 12, p. 2125-32, Dec 2011. ISSN 0006-3002 (Print)0006-3002 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21803079> >.

WEIBEL, E. R.; KISTLER, G. S.; SCHERLE, W. F. Practical stereological methods for morphometric cytology. **J Cell Biol**, v. 30, n. 1, p. 23-38, Jul 1966. ISSN 0021-9525 (Print)0021-9525 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5338131> >.

WHITAKER, K. W.; TOTOKI, K.; REYES, T. M. Metabolic adaptations to early life protein restriction differ by offspring sex and post-weaning diet in the mouse. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 22, n. 12, p. 1067-74, Dec 2012. ISSN 1590-3729 (Electronic)0939-4753 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21704502> >.

WIDDOWSON, E. M.; MCCANCE, R. A. A review: new thoughts on growth. **Pediatr Res**, v. 9, n. 3, p. 154-6, Mar 1975. ISSN 0031-3998 (Print)0031-3998 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1091911> >.

WILLIAMS, K. et al. Neonatal exposure to potent and environmental oestrogens and abnormalities of the male reproductive system in the rat: evidence for importance of the androgen-oestrogen balance and assessment of the relevance to man. **Hum Reprod Update**, v. 7, n. 3, p. 236-47, May-Jun 2001. ISSN 1355-4786 (Print)1355-4786 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11392370> >.

WILSON, J. F. Effects of pregnancy, sucrose, and various low-protein diets on the eating behavior of rats. **Physiology & Behavior**, v. 62, n. 4, p. 4, 03/10/1997 1997. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9284497> >.

WONG, P. Y.; LEE, W. M. Effects of spironolactone (aldosterone antagonist) on electrolyte and water content of the cauda epididymidis and fertility of male rats. **Biol Reprod**, v. 27, n. 4, p. 771-7, Nov 1982. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7171664> >.

WOODS, L. L. et al. Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. **Pediatric Research**, v. 49, n. 4, p. 460-467, Apr 2001. ISSN 0031-3998. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000167896400005 >.

XU, B.; WASHINGTON, A. M.; HINTON, B. T. Initial Segment Differentiation Begins During a Critical Window and Is Dependent upon Lumicrine Factors and SRC Proto-Oncogene (SRC) in the Mouse. **Biol Reprod**, v. 95, n. 1, p. 15, Jul 2016. ISSN 1529-7268 (Electronic)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27281706> >.

XU, W.; HARRISON, S. C.; ECK, M. J. Three-dimensional structure of the tyrosine kinase c-Src. **Nature**, v. 385, n. 6617, p. 595-602, Feb 13 1997. ISSN 0028-0836 (Print)0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9024657> >.

YAMASHITA, S. Localization of estrogen and androgen receptors in male reproductive tissues of mice and rats. **Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol**, v. 279, n. 2, p. 768-78, Aug 2004. ISSN 1552-4884 (Print)1552-4884 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15278948> >.

YESTE, M. et al. Aquaporins in the male reproductive tract and sperm: Functional implications and cryobiology. **Reprod Domest Anim**, v. 52 Suppl 4, p. 12-27, Oct 2017. ISSN 1439-0531 (Electronic)0936-6768 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29052330> >.

ZAMBRANO, E. The transgenerational mechanisms in developmental programming of metabolic diseases. **Revista De Investigacion Clinica**, v. 61, n. 1, p. 41-52, Jan-Feb 2009. ISSN 0034-8376. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266290700006 >.

ZAMBRANO, E. et al. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. **Journal of Physiology-London**, v. 563, n. 1, p. 275-284, Feb 15 2005. ISSN 0022-3751. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227224900020 >.

ZAYA, R.; HENNICK, C.; PEARL, C. A. In vitro expression of androgen and estrogen receptors in prepubertal and adult rat epididymis. **Gen Comp Endocrinol**, v. 178, n. 3, p. 573-86, Sep 15 2012. ISSN 1095-6840 (Electronic)0016-6480 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22809666> >.

ZEMAN, F. J. Effect of the young rat of maternal protein restriction. **J Nutr**, v. 93, n. 2, p. 167-73, Oct 1967. ISSN 0022-3166 (Print)0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6052988> >.

ZHOU, Q. et al. Estrogen action and male fertility: roles of the sodium/hydrogen exchanger-3 and fluid reabsorption in reproductive tract function. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 24, p. 14132-7, Nov 20 2001. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11698654> >.

ZHU, L. J. et al. Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. **Biol Reprod**, v. 63, n. 2, p. 368-76, Aug 2000. ISSN 0006-3363 (Print)0006-3363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10906039> >.

ZIMANYI, M. A. et al. A developmental nephron deficit in rats is associated with increased susceptibility to a secondary renal injury due to advanced glycation end-products. **Diabetologia**, v. 49, n. 4, p. 801-810, Apr 2006. ISSN 0012-186X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000235900100026 >.