

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/02/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**Esteroidogênese na prole de ratos submetidos à restrição
proteica materna: avaliação e estudos funcionais de
microRNAs/mRNAs responsivos à estrógeno na próstata**

Luiz Marcos Frediani Portela

Discente

Luís Antônio Justulin Junior

Orientador

Erick José Ramo da Silva

Coorientador

Sérgio Alexandre Alcantara dos Santos

Colaborador

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Esteroidogênese na prole de ratos submetidos à restrição
proteica materna: avaliação e estudos funcionais de
microRNAs/mRNAs responsivos à estrógeno na próstata**

Luiz Marcos Frediani Portela*Discente***Luís Antônio Justulin Junior***Orientador***Erick José Ramo da Silva***Coorientador***Sérgio Alexandre Alcantara dos Santos***Colaborador*

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Biologia Geral e
Aplicada, Área de concentração Biologia
Celular, Estrutural e Funcional (BCEF).

Prof. Dr. Luís Antônio Justulin Junior

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

Portela, Luiz Marcos Frediani.

Esteroidogênese na prole de ratos submetidos à restrição proteica materna : avaliação e estudos funcionais de microRNAs/mRNAs responsivos à estrógeno na próstata / Luiz Marcos Frediani Portela. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luís Antônio Justulin Junior

Coorientador: Erick José Ramo da Silva

Capes: 20100000

1. Próstata. 2. microRNAs. 3. Esteroides. 4. Dieta com restrição de proteínas.

Palavras-chave: DOHaD; Esteroidogênese; Próstata ventral; miRNA.

Dedicatória

A minha família,
Que sempre estiveram ao meu lado,
Meu muitíssimo obrigado.

Agradecimento especial

Aos meus pais Luiz Portela e Marcia Frediani, minha avó Benedita Frediani e minha irmã Anderliza Frediani,

Obrigado por serem exemplos de caráter e humanidade, e estarem sempre dispostos a me ouvir e ajudar.

Ao meu amigo e orientador Prof. Dr. Luís Antônio Justulin,

Justu, sem o seu esforço e dedicação esse trabalho não teria sido possível, obrigado por acreditar e confiar em mim.

Ao grande amigo e colaborador Dr. Sérgio Alexandre Alcantara dos Santos,

Pei, muito obrigado por todos os ensinamentos desde a iniciação científica, pelas risadas, você é um espelho de profissional a ser seguido.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Erick José Ramo Silva,

Erick, obrigado por toda a ajuda no desenvolvimento desse projeto, cada conversa foi um grande ensinamento.

Aos colegas de laboratório Ana Carolina Camargo, Flavia Bessi, Ketlin Colombelli e Matheus Fioretto,

Obrigado pela amizade, pelo acolhimento, ensinamentos e convívio. Vocês ensinam e inspiram a todos que aqui passam.

À minha querida amiga e aluna de Iniciação Científica Luísa Annibal Barata,

Lulu, sem a sua ajuda e companhia esse projeto não teria acontecido.

Aos Professores Dr^a Patrícia Aline Boer, Dr. Wellerson Rodrigo Scarano, Dr^a Adriana Torsani e Dr. Rafael Henrique Nóbrega,

Por aceitarem contribuir com esse trabalho, nas bancas de qualificação e defesa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP),

Pela concessão da bolsa de estudos (Processos 2018/26120-6).

Agradecimentos

Aos queridos colegas do **Laboratório de Matriz Extracelular (LabMEC)**, Nilton Santos, Caroline Barquilha, Franciele Moselle, Isabela Barbosa, Caio Monção, Juliana Caleffi, Mirian Aal, Gabriel Caxali, Renato Mattos, Matheus Betta Oliveira, Cecilia Luvizutti, Elian Ribeiro, Ana Beathriz Lorente, Beatriz Remoli e Isabelle Tenori, agradeço por esse incrível ambiente de trabalho. Aos que aqui passaram Isabela Paiva, Maira Cuciello, Teng Shing, Helga Nunes, ter convivido com vocês foi um prazer.

Aos colegas do Laboratório do musculo estriado (LBME), Laboratório de desreguladores endócrinos e carcinogênese (LABDECA) e Laboratório de Carcinogênese Química e Experimental (LCQE), Bruno Duran, Bruno Fantinatti, Sarah Santiloni Cury, Paula Paccielli Freire, Jéssica Silvino Valente, Alexandre Cavalca, Marco Antônio Fernandes de Oliveira, Gabriel Bacil, Joyce Zapaterini, Vânia Nunes e Nelci Moura cada um de vocês fazem esse departamento ser especial. Agradeço em especial minha querida amiga Ariana Musa de Aquino, pela amizade e ajuda em experimentos.

Aos professores Sérgio Luís Felisbino, Flavia Karina Delella, Wellerson Rodrigo Scarano, Maeli dal Pai, Robson Francisco Carvalho, Luís Fernando Barbisan, Claudia Helena Pellizon, Rafael Henrique Nóbrega, Claudio Oliveira, Daniela Carvalho e Arielle Arena, muito obrigado pelo conhecimento compartilhado e pela oportunidade que me concederam de atuar em aulas na graduação através das monitorias e estágio docência.

Aos demais discentes, docentes e funcionários do setor de Morfologia, obrigado pelos bons momentos vividos.

À Professora Dr^a. Fernanda Mani do setor de Química e Bioquímica do IB da UNESP-Botucatu, pela disponibilidade e ajuda na realização das dosagens séricas.

A minha família de Botucatu, República Bagaçu de Kana, pelo acolhimento, pela amizade e por todas as histórias, primeiramente aos ex-moradores Patrícia Bérghamo, Danilo Bérghamo, Guilherme Matsuno, José Diego Dias, Rafael Juvêncio e Vinicius Neiva. Aos demais moradores, Euler Molina, Gustavo Santos, Nicolas Regatieri, Alec Reznik, Giovani Cenci, Vinicius Tironi, Marcos Molina, Lucas Lins,

Lucas Soares e Gustavo Ambrósio, vocês também foram e são muito especiais. Agradeço em especial, ao meu amigo Fábio Vendramini, por toda a parceria e amizade ao longo de todos esses anos.

Aos meus queridos amigos Rafaela Manoel e Marcel Ferreira, não consigo imaginar como seria minha vida sem a presença e amizade de vocês. Marcel obrigado por me ensinar e ajudar a trabalhar com o “R”.

Aos amigos que me dão suporte desde 2014, Luiza Catapani, Leticia Vancin, Alana Galbiatti, Alefe Amorim, Gabryella Duarte, Mariana Capalbo e Karen Moreira, vocês foram essenciais para eu ter chegado até aqui.

À Gabriella Simião, Isabella Betti, Julia Garcia, Gabriela Loria, Gabriela Formoso, Eduarda Araujo, Ana Marques, Matheus Vasconcellos, Thamara Coelho, Nicole Bettini, Julia Savio, Juliana Zanini, Janini Rocha, Isabela Torres, Camila Bassi, Sarah Leite, Leticia Zanutto, Luana Campolino e Mário Lucas, foi sempre muito bom ter vocês por perto.

Aos meus amigos de Pratânia: Igor Joner, Isabela Mirandola, Vitória Martoreli, Hannah Assad, Elidiel Antunes, Guilherme Joner, Jefferson Cavallari, Agatha Cardoso, Felipe Anibal, Danielli Vieira, Alisson Quessada, Lara Gravina, Agatha Joner, Mileni Moracci, André Corazza, Rafael Praxedes e Eduardo Destro obrigado por não desistirem de mim e sempre serem minha válvula de escape.

À coordenação e professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada pela excelência na formação de seus alunos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos animais experimentais, os quais tratamos com todo o respeito e consideração.

Por fim agradeço a todos que de uma forma ou de outra, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Lista de abreviações

AR – Receptor de Andrógeno

CaP- Câncer de Próstata

CTR- Grupo Controle

CYP- Enzimas do complexo Citocromo p450

DHEA- Desidroepiandrosterona

DHT- Di-hidrotestosterona

DOHaD- Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (do inglês, Development Origins Health and Disease)

ER α – Receptor de estrógeno alfa

ER β – Receptor de estrógeno beta

FOAD – Fetal Origin of Adults Disease

GPER1 – Receptor de Estrógeno acoplado a proteína G 1

HSD- Hidroxiesteroide desidrogenase

INCA- Instituto Nacional do Câncer

GLLP – Grupo Restrição proteica materna gestacional e lactacional (do inglês, gestational and lactational low protein)

ncRNA- RNAs não codificantes

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONU- Organização das Nações Unidas

PF- Programação Fetal

PV- Próstata Ventral

RPM- Restrição Proteica Materna

UNICEF- Fundo das Nação Unidas para a Infância

SUG - epitélio do seio urogenital

MEC - matriz extracelular

DG - Dia gestacional

CPRC - Câncer de Próstata Resistente a Castração

RAR - receptores retinoides

Lista de Figuras

Capítulo 01 – Revisão de Literatura

Figura 1. Imagem representativa da anatomia prostática.....	20
Figura 2. Imagem representativa da organização tecidual da próstata.	21
Figura 3. Esquema representativo do desenvolvimento da próstata	22
Figura 4. Imagem representativa das etapas bioquímicas da esteroidogênese.	24
Figura 5. Esquema representativo da biogênese e mecanismos dos miRNA.....	31
Figure 1. Representative image of the RT-qPCR result for enzymes that act in the steroidogenic pathway	65
Figure 2. Representation of animals in the postnatal day (PND)1 and PND 21, histological sections of ventral prostate (VP) lobes, and the expression of hormone receptors..	66
Figure 3. Circus plot graphic identifying the network of miRNAs-mRNA DE in the Ventral Prostate (VP) the animals of GLLP group and RT-qPCR analysis of relative expression of miR206-3p.	68
Figure 4. In silico validation of miR206 targets in patients with Prostate Cancer (PCa)	71
Figure 5. Representation of miR206 mimic assays in PNT2 cells.....	71
Supplementary Figure 1. Representative image of RT-qPCR analysis of <i>Cyp11a1</i> gene	73
Supplementary Figure 2. Representative image of RT-qPCR analysis of <i>Hsd3b7</i> gene	73
Supplementary Figure 3. Representative image of RT-qPCR analysis of <i>Hsd17b6</i> gene	73
Supplementary Figure 4. Representative image of RT-qPCR analysis of <i>Srd5a3</i> gene	74
Supplementary Figure 5. Representative image of RT-qPCR analysis of <i>Cyp19a1</i> gene	74
Supplementary Figure 6. Representative image of RT-qPCR analysis of <i>Cyp7b1</i> gene	74

Lista das Tabelas

Capítulo 02 – Artigo

Table 1. Biometric parameters of the dams and offspring and hormonal levels at PND 21... 64

Table 2. Results of the ways in which miRNAs are secreted generated by the miRandola database..... 67

Table 3. The main functions of the target miR206-3p genes that are differentially expressed in the VP of animals submitted to MLPD..... 69

Supplementary Table 01- Composition of control diet and low protein diet

Supplementary Table 02 - Primers sequences that where be analyzed by the reaction of RT-qPCR.

Supplementary Table 03 - miRNA differentially expressed in VP of animals at DPN 21.

Supplementary Table 04 - mRNA differentially expressed in VP of animals at DPN 21.

Supplementary Table 05- The predict targets of miRNA DE in VP at PND21.

Supplementary Table 06 - Network of miRNA-mRNA differentially expressed in VP of animals at DPN 21.

RESUMO

A restrição proteica materna (RPM) é um fator determinante na alteração da saúde da prole ao longo da vida, colocando-a dentro da abordagem da Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (DOHaD). Está associada a RPM alterações nos níveis séricos de hormônios esteroides, perda do desenvolvimento normal da próstata e torna-se um fator determinante para o aumento da incidência de câncer de próstata (CaP) com o envelhecimento. Descrevemos aqui que os animais que foram submetidos a RPM no dia pós-natal (DPN) 21 apresentam baixo peso ao nascer, diminuição dos níveis séricos de progesterona, dehidroepiandrosterona, aumento do colesterol total, testosterona e estrogênio. Associamos o aumento desses hormônios, principalmente estrogênio, com o aumento da expressão de *Cyp19a1* (aromatase) na pele, no fígado e na glândula adrenal. Como resultado desse aumento nos níveis de estrogênio, observamos uma perda do desenvolvimento normal do lobo prostático ventral (PV) levando a glândulas menores e alteração na expressão genica de receptores hormonais. Estudos de sequenciamento de miRNA mostraram o miR206-3p up-regulado na PV desses animais, através de análises *in silico* identificamos que os alvos preditos para miR206-3p estão potencialmente contribuindo para a carcinogênese prostática, esses alvos levam a pior prognóstico de sobrevida em pacientes humanos com PCa. Ensaio que mimetizam a expressão de miR206-3p em células prostáticas humanas benignas da linhagem PNT2, mostraram uma redução na viabilidade celular como resultado do aumento do miR206-3p. Com isso descrevemos como a RPM impacta a esteroidogênese sistêmica da prole, e a possível influência do miR206 na resposta prostática a essa condição adversa

Palavras-Chave: DOHaD; Restrição Proteica Materna; Próstata Ventral; esteroidogênese; miRNA

Sumário

Capítulo 1. Revisão de Literatura..... 13

1. Enunciado da problemática.....	14
1.1 Programação Fetal por restrição proteica materna.....	16
1.2 Desenvolvimento prostático e Restrição proteica materna	18
1.3 Esteroidogênese	23
1.4 Estrógeno e Próstata.....	27
1.5 Epigenética, Programação Fetal e Estrógeno	29
2. Justificativa e relevância do tema	32
3. Objetivos	32
3.1 Objetivo geral:	32
3.2 Objetivos específicos:.....	32
4. Resultados.....	33
5. Referências Bibliográficas.....	34

Capítulo 2. Artigo Científico43

Maternal malnutrition alters steroid biosynthesis and increase the expression of tumor suppressor miR206-3p in the ventral prostate of young rat offspring.....	44
--	-----------

Capítulo 1. Revisão de Literatura

1. Enunciado da problemática

Apesar do direito de nenhum indivíduo padecer de fome e desnutrição, esta é a segunda causa que mais mata indivíduos com até cinco anos de idade em países subdesenvolvidos e/ou em desenvolvimento (BHUTTA et al., 2017). Dados do Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) e da Organização Mundial de Saúde (OMS) estimam que cerca de 821 milhões de pessoas no mundo sejam subnutridas, além de estimarem que entre 1990 e 2015 cerca de 263 milhões de indivíduos com até cinco anos vieram a óbito no mundo devido à desnutrição (MATHERS et al., 2015). A Organização das Nações Unidas (ONU), ao estabelecer os “*Objetivos do Desenvolvimento Sustentável*”, destacou em sua meta número 2, a “*Fome Zero e agricultura sustentável*”, para mostrar ao mundo a importância da redução da desnutrição (ONU, 2015).

São reconhecidos vários tipos de desnutrição, dentre eles a desnutrição proteica, que é caracterizada pela diminuição na oferta de aminoácidos, que leva ao desequilíbrio na homeostasia sistêmica do indivíduo (BORCK et al., 2017). O tipo mais prevalente de desnutrição é aquele que compromete o crescimento somático do indivíduo, dando um fenótipo de baixo peso, baixa estatura e anormalidades fisiológicas (BLACK et al., 2013). Outra problemática associada à desnutrição é a maior susceptibilidade a resposta a doenças infecciosas e agudas (ZMORA et al., 2017). Como por exemplo, durante a epidemia de Zika vírus no Brasil e no mundo entre os anos de 2016 e 2017, muito se discutiu sobre os cofatores que contribuíam para as diferentes formas da Síndrome Congênita do Zika (SCZ) (DE ARAÚJO et al., 2018). Barbeito-Andres e seus colaboradores (2020), em um estudo experimental com roedores submetidos a desnutrição materna e expostas ao Zika vírus apresentavam alterações na estrutura placentária, menor crescimento da prole, diminuição da neurogênese e o fenótipo de microcefalia (BARBEITO-ANDRÉS et al., 2020). Assim, a desnutrição proteica se torna ainda mais grave ao afetar mulheres em idade reprodutiva, recém-nascidos e crianças de até cinco anos de idade.

Nas últimas décadas inúmeros trabalhos tentaram compreender a correlação da maior incidência de doenças crônicas na vida adulta com insultos sofridos no período intrauterino e/ou primeira infância. Tais insultos podem ser o consumo de drogas e tabaco, alimentação inadequada, poluição ambiental, e doenças metabólicas que podem

afetar de maneira irreversível o desenvolvimento do embrião/feto (MERICQ et al., 2017). Em 1977, Forsdahl foi um dos primeiros cientistas a publicar trabalho correlacionando a incidência de doenças ateroscleróticas na vida adulta com a pobreza na infância e adolescência (FORSDAHL, 1977). No entanto, anos mais tarde, durante a década de 1980, o médico epidemiologista inglês David Barker e seus colaboradores, demonstraram a correlação positiva entre má nutrição infantil, aumento da incidência de mortalidade neonatal e de aumento de mortes por doenças cardíacas na idade adulta, em regiões mais pobres da Inglaterra e do País de Gales (BARKER; OSMOND, 1986), ainda na década de 1980 Barker e colaboradores mostraram que recém-nascidos entre 1911 e 1930 na região de Hertfordshire-Inglaterra e que apresentavam um baixo peso corpóreo para a idade, tinham até 2,7 mais chances de morrer em decorrência de doenças cardíacas quando comparados à recém-nascidos com peso considerado normal para a idade (BARKER et al., 1989). No início da década de 1990 em outro estudo, David Barker e seus colaboradores, analisando dados de peso corpóreo ao nascimento, peso da placenta, peso corpóreo na vida adulta e pressão arterial conseguiram demonstrar que o baixo peso corpóreo ao nascimento associado à maior peso placentário materno estavam diretamente associados aos quadros de hipertensão na vida adulta, dando origem à **“Origem fetal das doenças do adulto”** (*“Fetal Origin of Adult Diseases”*) (**FOAD**) (BARKER et al., 1990). Posteriormente, em 1991, Alan Lucas cunhou o termo **Programação Fetal** (PF) (LUCAS, 1991). Hales e Barker em 1992, propuseram a ideia do “fenótipo econômico”, que a PF por restrição alimentar nas fases iniciais do desenvolvimento adapta o metabolismo a essa condição pobre em nutrientes, e se na vida adulta tivesse contato com uma alimentação normal estaria mais propenso a desenvolver obesidade e diabetes mellitus do tipo 2 (HALES; BARKER, 1992). Essa teoria e estudos epidemiológicos, inicialmente controversos, despertaram grande interesse médico-científico e anos mais tarde culminou na criação de uma sociedade internacional, denominada **Origem desenvolvimentista da Saúde e da Doença** (*“Developmental Origins Of Health and Disease”*) (DOHaD) (SUZUKI, 2018).

Entre os anos de 1944 e 1945, próximo ao final da 2ª Guerra Mundial a Alemanha visando a rendição da Holanda, impediu a chegada de alimentos a esse país, ocasionando um período de severa escassez alimentar, onde o consumo alimentar dessa população foi limitado a 400-800 calorias/dia, inclusive para gestantes (SCHULZ, 2010). Esse episódio ficou conhecido como *“Dutch Hunger Winter”* (Inverno da Fome

Holandês). Embora seja um evento trágico os dados dessas populações nos permitiram compreender como a má alimentação materna impacta sobre a saúde humana, corroborando com a teoria de Barker. Ravelli et al. (1976) demonstraram o impacto da restrição alimentar sobre os filhos das mulheres gestantes durante o Inverno da Fome Holandesa. Na vida adulta, esses indivíduos cujas mães sofreram restrição alimentar, apresentaram padrões diferenciados de composição corporal dependendo da fase da gestação em que haviam sido expostos à desnutrição materna, sendo o trimestre inicial responsável por maior índice de obesidade quando comparadas ao último trimestre (RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976). Com isso, os autores demonstraram que, além do impacto negativo da desnutrição materna sobre a prole, seus efeitos dependem do período gestacional em que o insulto ocorre.

Ao longo do tempo, outros trabalhos começaram a ser publicados descrevendo maiores informações sobre essas vítimas do Inverno da Fome Holandesa. Hoek e Susser, estabeleceram que a desnutrição materna estava associada à anomalias congênitas no sistema nervoso central, aumento dos casos de esquizofrenia, bem como distúrbios de personalidades (HOEK; BROWN; SUSSER, 1998), e potencialmente se tornam mais propensos a desenvolverem vícios durante a vida adulta (FRANZEK et al., 2008). Outros estudos sugerem que esses indivíduos apresentavam uma diminuição na secreção de insulina, assim ocasionando menor tolerância a glicose e o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DE ROOIJ et al., 2006); foi estabelecido que mulheres descendentes da fome holandesa não apresentavam alteração no sucesso reprodutivo embora um quarto delas entravam na menopausa precocemente (YARDE et al., 2013).

1.1 Programação Fetal por restrição proteica materna

A restrição proteica materna (RPM) em ratas gestantes e/ou lactantes é um dos modelos mais conhecidos e utilizados em estudos de PF (JAHAN-MIHAN et al., 2015; LANGLEY-EVANS; MCMULLEN, 2010; LANGLEY-EVANS; PHILLIPS; JACKSON, 1994). A literatura reporta que a RPM durante a gestação e/ou lactação é responsável pelo baixo peso da prole ao nascimento (COLOMBELLI et al., 2017; SANTOS et al., 2018). Além disso, esses indivíduos com baixo peso ao nascer e que desenvolvem crescimento pós-natal acelerado (*catch-up growth*) apresentam maior propensão a desenvolver resistência à insulina e diabetes tipo 2 na idade adulta (BERENDS et al., 2013, 2018; KESAVAN; DEVASKAR, 2019).

Estudos experimentais mostram que a RPM se torna fator determinante para o desenvolvimento de síndromes metabólicas na prole ao longo da vida (JAHANMIHAN et al., 2015), altera a resposta do indivíduo frente às condições adversas (MARTINS et al., 2018) e está associada a alterações morfofuncionais em diferentes órgãos, evidenciando que a RPM altera sistemicamente o indivíduo. Sendo relatado modulação do metabolismo de glicose (ZHENG et al., 2017), desbalanço nos níveis séricos de leptina (QASEM et al., 2016; ZAMBRANO et al., 2006), alteração nas concentrações séricas de Insulina, IGF1 e IGF2 (BERENDS et al., 2018; COLOMBELLI et al., 2017; SANTOS et al., 2018), de moléculas inflamatórias como IL1b (TARRY-ADKINS et al., 2018) e de hormônios esteroides (RINALDI et al., 2013; SANTOS et al., 2018).

Além dessas alterações metabólicas, há também alterações órgão-específicas, como: diminuição dos depósitos de gordura, diminuição da proliferação celular no fígado, além de alteração na expressão gênica e em vias importantes para a sobrevivência dos hepatócitos (CAMPISANO et al., 2017; MARTIN et al., 2018; RAMADAN; ALSHIRAIHI; AL-KARIM, 2013); menor quantidade do número de células β , menor taxa de proliferação celular, perda da sensibilidade de resposta no pâncreas as alterações metabólicas e diminuição na secreção de insulina (DUMORTIER et al., 2014; MORIMOTO et al., 2012; SU et al., 2016); alteração na arquitetura, bioquímica e nas proporções de neurônios no cérebro (GOULD et al., 2018), atrofia dendríticas em neurônios hipotalâmicos (LOPES et al., 2013), bem como alteração de neurônios e vias hipotalâmicas associadas ao controle da saciedade (COUPE et al., 2009; MARTIN-GRONERT et al., 2016); diminuição do número de néfrons ao longo da vida (RIZZI et al., 2017) e alteração de vias moleculares que regulam a transição epitélio-mesênquima no rim (SENE et al., 2018); menor número de alvéolos pulmonares, redução da vascularização pulmonar e alteração na produção de surfactante (KHAZAEI et al., 2019; LIU et al., 2014); quadros de hipertensão, cardiopatias, mudanças na morfologia e em vias moleculares no coração (ASSALIN; GONTIJO; BOER, 2019); alteração na estrutura morfologia e da microbiota intestinal, bem como diminuição da absorção de ferro e nutrientes no intestino (JIN et al., 2019; MA et al., 2017; WANG et al., 2020); alteração no padrão da musculatura estriada esquelética (CABEÇO et al., 2012) e diminuição da massa óssea (QASEM et al., 2016).

Nas últimas décadas foram descritos alguns dos impactos que a RPM tem sobre o sistema genital, sendo observado redução da distância ano-genital na prole masculina (SANTOS et al., 2018) e aumento nas fêmeas (GUZMÁN et al., 2006), diminuição da taxa de fertilidade e alteração da instalação da puberdade (ZAMBRANO et al., 2014). No sistema genital da prole feminina foram observadas diminuição do número da reserva de folículos ovarianos e alteração no padrão de produção de hormônios esteroides intraovariano (GUZMÁN et al., 2014); além do atraso no desenvolvimento mamário (BAUTISTA et al., 2013) e favorecimento no desenvolvimento de câncer de mama após exposição ao desregulador endócrino bisfenol A (BPA) (VARUZZA et al., 2019). Além disso, na prole masculina foram descritos diminuição do peso testicular, alteração na organização celular dos túbulos seminíferos, redução da expressão do receptor de andrógeno nos testículos e comprometimento da produção espermática (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2012), seguido de aumento de estresse oxidativo intratesticular e espermático (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2014); alteração morfológicas e morfométrica do epidídimo e redução da vasculogênese do epidídimo nas fases iniciais do desenvolvimento epididimal e na idade reprodutiva (CAVARIANI et al., 2019; DE MELLO SANTOS et al., 2019). Esses dados, em conjunto demonstram que a RPM afeta negativamente o status metabólico, a morfogênese e a homeostase de importantes órgãos e tecidos ao longo da vida do indivíduo, podendo comprometer sua capacidade e sucesso reprodutivo.

1.2 Desenvolvimento prostático e Restrição proteica materna

Dentre os órgãos reprodutivos que são essenciais para o sucesso reprodutivo temos a próstata que é uma glândula exócrina acessória ao sistema genital masculino, cujo desenvolvimento e homeostase estão sobre controle de andrógenos, ela é dividida em dois compartimentos, o estroma e epitélio, que sinalizam de forma parácrina desencadeando inúmeras respostas moleculares (CUNHA et al., 1987, 2018; MARKER et al., 2003). Ela é responsável por secretar um complexo proteolítico composto por fosfatase ácida, ácido cítrico, fibrinolizina, enzimas específicas, imunoglobulinas que ajudam a compor o fluido seminal (VERZE; CAI; LORENZETTI, 2016). Essa secreção é importante para o sucesso da reprodução, auxilia na motilidade espermática, uma vez que ele liquefaz o ejaculado, além de garantir nutrientes e enzimas que irão auxiliar a alcalinizar o canal vaginal, permitindo que o espermatozoide caminhe até o ovócito (MARKER et al., 2003; VERZE; CAI; LORENZETTI, 2016). Mas a principal proteína

secretada pela próstata é o antígeno prostático específico (PSA), uma molécula pertencente à família das calicreínas, uma protease que contribui para impedir a coagulação do fluído seminal (WANG et al., 2017a); além de sua importância fisiológica o PSA é usado como valor prognóstico e diagnóstico na clínica do Câncer de Próstata (CaP) (MORADI et al., 2019; NORDSTRÖM et al., 2018).

Anatomicamente, a próstata humana está localizada no compartimento subperitoneal entre o diafragma pélvico e a cavidade peritoneal. Ela tem uma base ligada ao colo da bexiga, a face anterior é separada da sínfise púbica pela gordura retroperitoneal no espaço retropúbico, a face posterior relacionada com a ampola do reto e as faces inferolaterais relacionadas com o músculo levantador do ânus. Ela tem o formato de “noz”, que em condições normais, pesa cerca de 20-30 gramas e circunda a parte prostática da uretra (HENRY et al., 2018; ITTMANN, 2018). Embora seja uma estrutura única a próstata é subdividida em três conjuntos de estruturas túbulo alveolares formando zonas, sendo elas: Zona central, região mais próxima a uretra e que corresponde a 5% da fração glandular; Zona de transição região mediana, cuja região corresponde a 25% da fração glandular, essa região se torna extremamente importante uma vez que ela é acometida nos quadros de Hiperplasia Prostática Benigna (HPB); e a Zona Periférica, que corresponde a 70% de sua extensão e essa região que é acometida no CaP. Externamente, a próstata é envolta por uma capsula fibroelastica (TOIVANEN; SHEN, 2017; YACoub; OTO, 2018). Diferente da próstata humana, os roedores apresentam uma próstata dividida em quatro pares de lobos disposto ao redor da uretra, o lobos prostáticos em roedores são: ventral, dorsal, lateral e anterior (MARKER et al., 2003). Cada lobo prostático possui suas particularidades de organização histológica, padrão de expressão gênica e responsividade aos hormônios (CUNHA et al., 2018; MARKER et al., 2003; PRINS; PUTZ, 2008) . Na Figura 1 estão representadas principais diferenças anatômicas entre a próstata de humano e roedores.

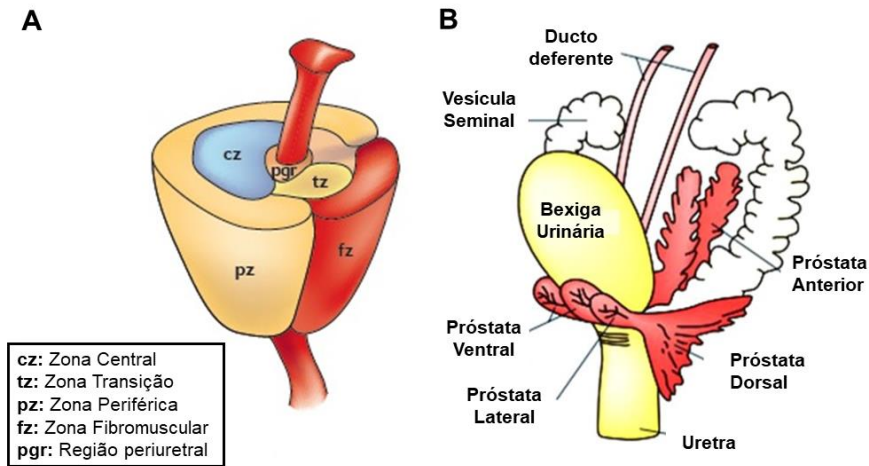


Figura 1. Imagem representativa da anatomia prostática. A: Representação da anatomia da Próstata humana, adaptado de VERZE; CAI; LORENZETTI (2016). B: Representação da anatomia da Próstata de roedores, imagem adaptada de CUNHA (1985).

Assim como na próstata humana a próstata de roedores possui estruturas túbulo-alveolares que são revestidas por células epiteliais simples. A população de células encontradas na próstata podem ser: as células secretoras/luminais, a maior população de células prostáticas e que são as células responsáveis por secretar as proteínas que irão compor o fluido seminal; as basais, presentes em menor número, que possuem função proliferativa, mantendo as populações celulares da glândula; as intermediárias que apresentam características intermediárias entre as células secretoras e basais; as neuroendócrinas, que são àquelas que atuam orquestrando o desenvolvimento e manutenção da próstata, além de secretar inúmeros fatores de crescimento; ambas células ancoradas em uma membrana basal composta por colágeno do tipo IV e laminina (TOIVANEN; SHEN, 2017). Em seu estroma há presença de células musculares lisas, fibroblastos, neurônios, vasos, além de mastócitos e macrófagos e toda uma rede complexa de elementos de matriz extracelular (MEC), rica em colágeno, fibras reticulares, fibras elásticas, proteoglicanos e glicoproteínas (Figura 2) (MCNEAL, 1988; TOIVANEN; SHEN, 2017; YACOUN; OTO, 2018).

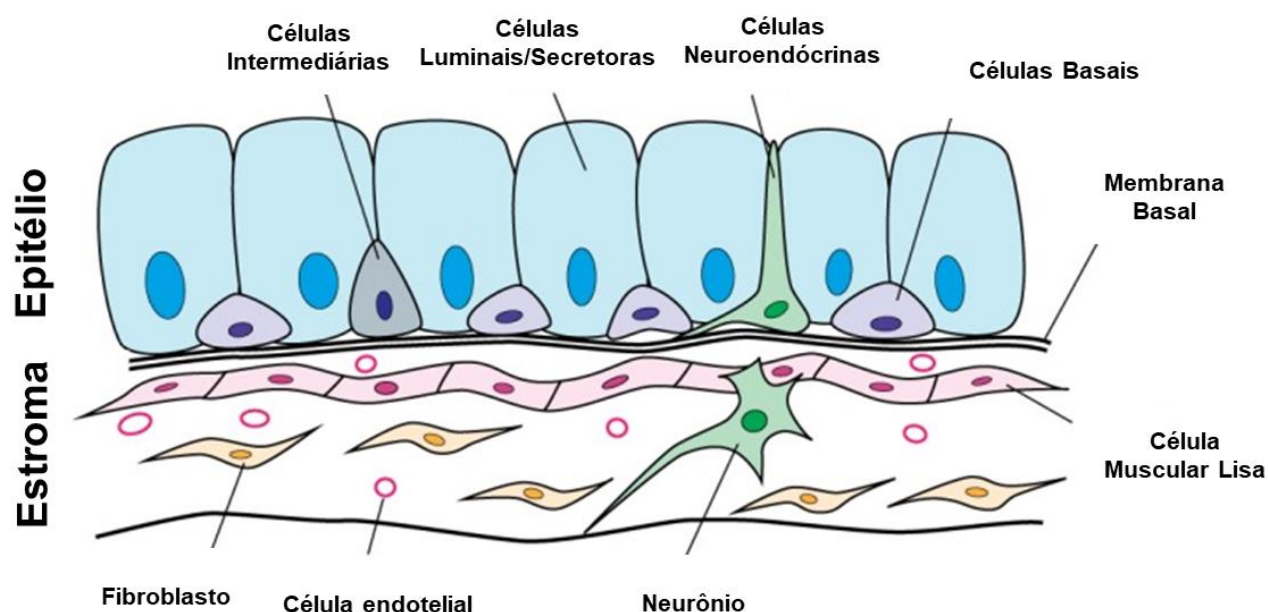
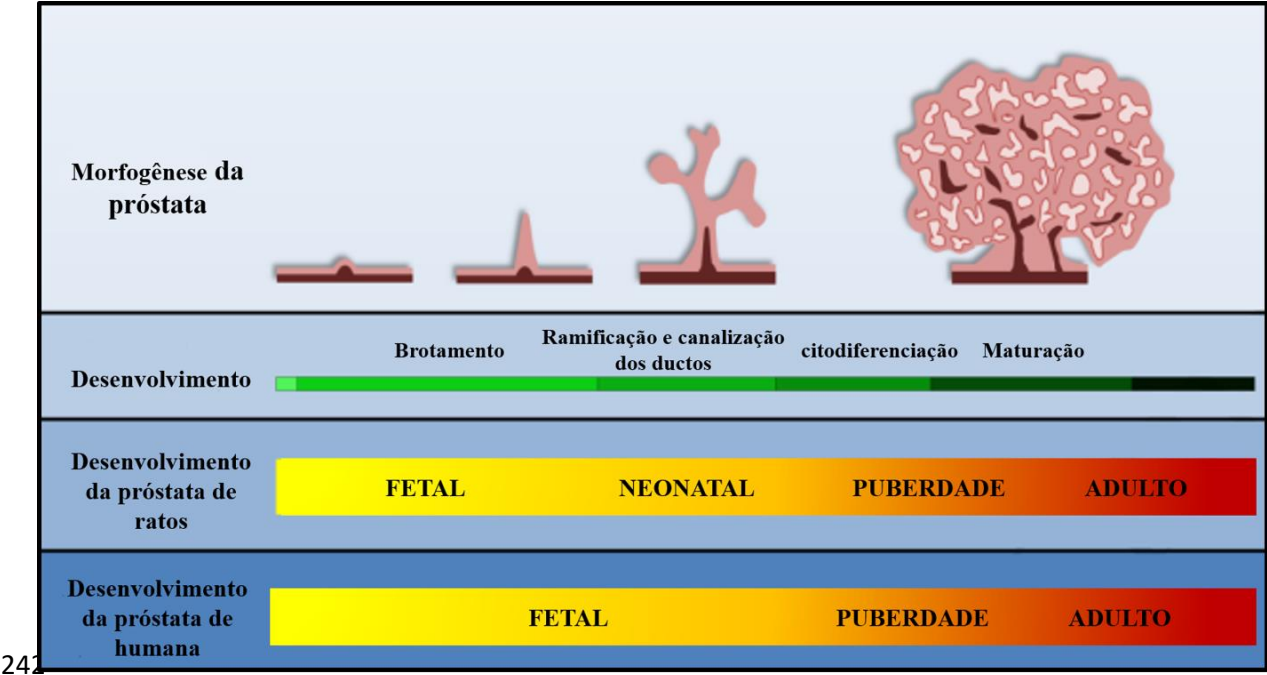


Figura 2. Imagem representativa da organização tecidual da próstata, sendo representado os componentes do epitélio e do estroma, imagem adaptada de TOIVANEN e SHEN (2017).

Em humanos o desenvolvimento da próstata se inicia por volta da 9,5ª semana, em roedores ela tem início no dia gestacional (DG) 17º em camundongos e 18º em ratos (CUNHA et al., 1987, 2018). Em ambas as espécies o desenvolvimento da próstata se dá por um processo altamente conservado, chamado de “Morfogênese de Ramificação”, onde pequenos brotos se projetam a partir do epitélio do seio urogenital (SUG) e que adentra no mesênquima que o circunda (FRANCIS; SWAIN, 2018; THOMSON, 2008). Enquanto em humanos o desenvolvimento prostático acontece a maior parte no período intrauterino, em roedores a maior parte acontece na vida pós natal, nos primeiros 15 dias de vida (SCARANO et al., 2018). Mesmo com essa particularidade, em ambas as espécies o processo de desenvolvimento prostático encerra sua maturação com a chegada da puberdade (MARKER et al., 2003).

Em roedores, o início do desenvolvimento prostático se dá entre o DG 13-14 quando as células de Leydig dos testículos fetais começam a produzir testosterona, que leva a um pico da concentração hormonal no DG 15 (CUNHA et al., 2018; TIMMS, 2008). Em resposta a esse aumento nos níveis hormonais, uma região específica do epitélio do SUG no DG15,5 sofre alteração no seu padrão de sinalização intracelular em resposta a ativação do Receptor de Andrógeno (AR), essas células irão dar origem a próstata, esse processo é denominado determinação, as vias ativadas nesse momento são de *p63*, *Wnt* e *Sonic hedgehog (Shh)* (PRINS; PUTZ, 2008; SCARANO et al., 2018;

230 TOIVANEN; SHEN, 2017). Para que ocorra a formação dos primeiros brotos
 231 prostáticos, através de sinalização parácrina entre epitélio e mesênquima, é ativada as
 232 vias de Fatores de Crescimento de Fibroblasto (*Fgf*), *Wnt* e *Sox9* (FRANCIS; SWAIN,
 233 2018; PRINS; PUTZ, 2008). O alongamento, ramificação e canalização dos ductos
 234 prostáticos acontece em roedores no período neonatal, enquanto em humanos ocorre *in*
 235 útero, para essa etapa é necessária a ativação de vias *Hox*, *Nkx3.1*, *Fgf*, *Wnt*, *Bmp* e
 236 *Notch*, que irão orquestrar a proliferação e a ramificação da próstata (ABATE-SHEN;
 237 SHEN; GELMANN, 2008; PRINS; PUTZ, 2008; SCARANO et al., 2018; ZHU et al.,
 238 2007). A citodiferenciação da próstata acontece na puberdade e nela as células passam a
 239 expressar *Ar*, *Pten*, *FoxA1*, *Hox*, *Nkx3.1* e *Fgf*, esse processo é essencial para que a
 240 próstata enfim consiga chegar a sua maturidade (CUNHA et al., 2018; FRANCIS;
 241 SWAIN, 2018; MARKER et al., 2003; PRINS; PUTZ, 2008) (Figura 3).



243 **Figura 3.** Esquema representativo do desenvolvimento da próstata em roedores e humanos, adaptado de
 244 SCARANO et al., (2018)

245 Além de ser importante para fertilidade a próstata nos últimos anos vem
 246 despertado grande interesse médico-científico pela alta incidência de patologias, dentre
 247 elas destaca-se a HPB e o CaP (BANERJEE et al., 2018). Segundo dados publicados
 248 pela “*Global Cancer Statistics*” (Globocan) 2018, o CaP é o segundo câncer que mais
 249 acomete homens no mundo ficando atrás apenas do câncer de pele não melanoma e a
 250 quinta principal causa de mortes no mundo, sendo diagnosticado no mundo 1.276.106
 251 novos casos apenas em 2018, sendo mais comum o diagnóstico em países

desenvolvidos, atingindo homens com idades acima de 65 anos e mais comum em homens afro-americanos que homens brancos (BRAY et al., 2018). Dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), mostra que a realidade do CaP não é diferente no Brasil, a estimativa para o ano de 2020 é de 65.840 novos casos (INCA, 2020).

Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa vem se dedicando a entender como a RPM afeta o desenvolvimento da próstata e seus efeitos até o envelhecimento da prole. Colombelli et al., (2017) observaram que a próstata ventral (PV) dos animais submetidos à RPM durante a gestação e/ou lactação apresentaram menor tamanho dos ácinos prostáticos, diminuição da angiogênese da glândula e queda nos níveis séricos de testosterona no dia pós-natal (DPN) 10 e 21. Santos et al., (2018; 2020) investigaram o período final do desenvolvimento prostático e o envelhecimento, com animais nos DPN 21 e 540, notando atraso no desenvolvimento da PV no DPN 21 e maior incidência de lesões prostáticas no envelhecimento, tais como displasia epitelial, neoplasia intraepitelial (PIN) e carcinoma *in situ* nos animais submetidos a RPM, estes dados foram correlacionados à estrogenização desses animais, pois foram observados altos níveis séricos de estrógenos nas mães e prole no DPN 21 e aumento na proporção estrógeno/testosterona nos animais no DPN 540, outro fator importante foi a alteração no perfil proteômico da glândula prostática desses animais, apresentando o enriquecimento de vias moleculares associadas ao perfil de perturbação estrogênica (SANTOS et al., 2020). Portela e seus colaboradores (2020), mostraram que esses animais no DPN 540 apresentavam um aumento do estresse oxidativo intraprostático e desregulação na expressão de importantes biomarcadores conhecidos do CaP (PORTELA et al., 2020).

1.3 Esteroidogênese

O estrógeno é um hormônio esteroide, de natureza lipídica, cuja síntese se dá através de uma série de reações em cascata a partir de uma molécula de colesterol, o processo de formação dos hormônios esteroides recebe o nome de esteroidogênese (Figura 4). Num primeiro momento há conversão do colesterol em pregnenolona mediado pela enzima CYP11a1 dentro das mitocôndrias. No citoplasma a pregnenolona pode seguir dois caminhos, em um deles é convertida em progesterona pela enzima 3 β HDS. A progesterona é convertida pela p450c17 em 17OH-Progesterona e pela 17,20 liase é convertida em androstenediona.; no outro caminho a pregnenolona é convertida

em 17OH-Pregnenolona pela p450c17, que depois pela 17,20 liase é convertida em Desidroepiandrosterona (DHEA), o DHEA é convertido pela 3 β HDS androstenediona, sendo essa convertida pelo 17 β HDS em testosterona. A testosterona pode ser metabolizada, gerando duas moléculas: a DHT via enzima 5 α redutase; ou o estrógeno via aromatase (ACKERMANN et al., 2019; MILLER, 2017). Os processos de esteroidogênese acontecem tanto em órgãos reprodutivos como testículo e a próstata, bem como em órgãos periféricos, em órgãos centrais do sistema endócrino como adrenal, fígado e pele.

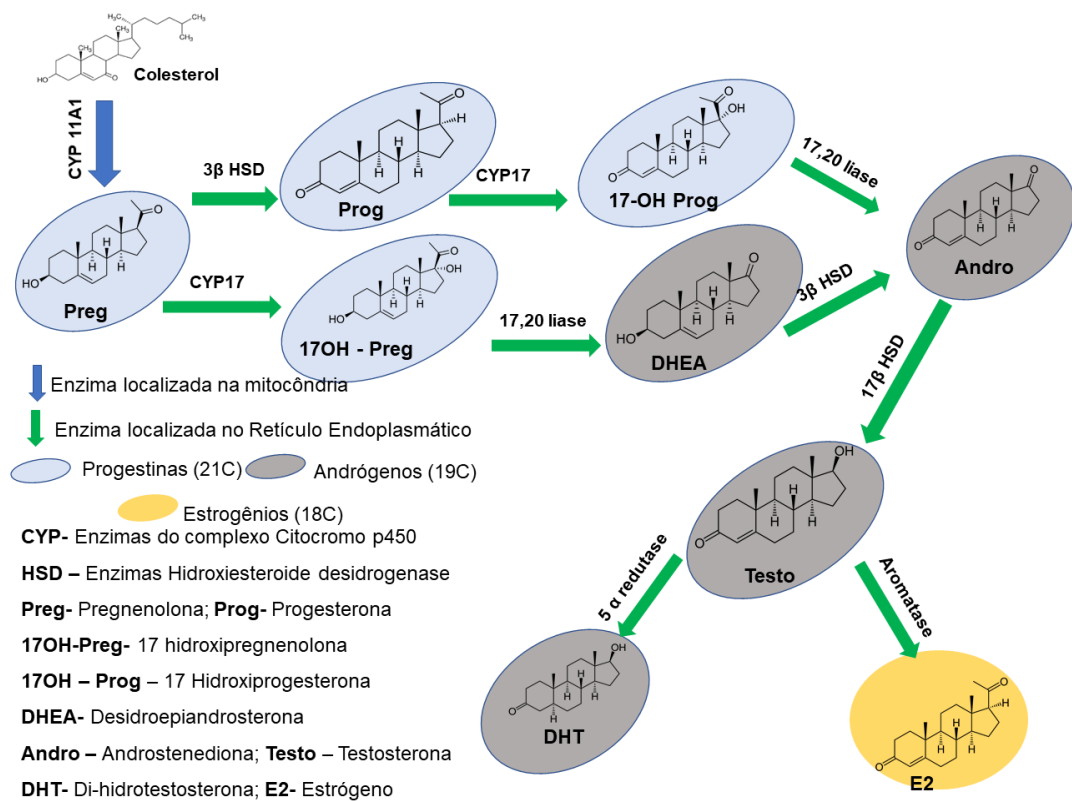


Figura 4. Imagem representativa das etapas bioquímicas da esteroidogênese.

Nos testículos, em específico nas células de Leydig, àquelas localizadas no interstício entre os túbulos seminíferos, elas captam moléculas de colesterol da corrente sanguínea e realizam o processo de conversão à testosterona (WANG et al., 2017b). Em ratos tratados com corticosterona e 2,3,7,8-tetracloro dibenzo-p-dioxina (TCDD), apresentaram baixos níveis intratesticulares de testosterona e uma drástica diminuição na expressão de enzimas que atuam na esteroidogênese (DHANABALAN; MATHUR; LATHA, 2015); o antibiótico triclosan também é outro composto que leva a redução dos níveis de testosterona intratesticular, diminuição da expressão gênica e proteica de enzimas 3 β Hsd e 5 α -redutase (HA et al., 2018); também foi demonstrado que animais

diabéticos apresentam diminuição nos níveis séricos de testosterona, hormônio luteinizante (LH), diminuição da expressão intratesticular das enzimas 17β Hsd, Cyp11a1, além da redução da viabilidade espermática (GHOLIZADEH et al., 2019).

Nas glândulas adrenais a esteroidogênese ocorre no seu córtex, ocorrendo processos específicos em cada uma de suas zonas: na zona glomerulosa ocorre a produção de mineralocorticoides, como a aldosterona; na zona fasciculada ocorre a síntese de corticoides, como cortisol e corticosterona; e na zona reticulada a produção de andrógenos, como DHEA e testosterona (VINSON, 2016). Melau e seus colaboradores (2019) caracterizaram a expressão de enzimas esteroidogênicas, os níveis de hormônios intra-adrenais e a localização tecidual de marcadores esteroidogênicos durante o primeiro e o segundo trimestre de gestação de humanos, mostrando que há um perfil distinto em ambas as fases do desenvolvimento (MELAU et al., 2019). Camundongos *knockouts* para proteína translocadora de colesterol para a mitocôndria, demonstraram não alterar os níveis hormonais quando jovens, mesmo com sutis alterações no fluxo da esteroidogênese, no entanto passam a apresentar anormalidades na esteroidogênese ao envelhecerem (BARRON et al., 2018). Estudos demonstraram que a RPM leva a uma diminuição no peso das glândulas adrenais e aumento das concentrações séricas de corticosterona em animais no DPN 91 e DPN 180 (DE OLIVEIRA et al., 2016; FAGUNDES et al., 2007).

Devido a sua capacidade de acumular gotículas de lipídeos em seu interior, o fígado é outra glândula que tem sua homeostase associada aos níveis séricos de hormônios esteroides (JHA et al., 2018), além de apresentar a expressão de inúmeras enzimas da família CYP (CHIKADA et al., 2018). Em condição normal, foi demonstrado que o único hormônio esteroide detectado no fígado é a pregnenolona (MAEDA et al., 2012). Estudos experimentais, mostraram que lesões hepática causadas pela administração de drogas sejam responsáveis por reduzir os níveis séricos de testosterona (ASADI et al., 2017). Murakami e seus colaboradores (2018) demonstraram em pacientes humanos correlação positiva entre o aumento da imunorreação da aromatase e 17β -HSD com fígados lesionados pelo vírus da Hepatite B, sugerindo possível papel da resposta estrogênica nesses processos infecciosos (MURAKAMI et al., 2018). Também foi descrito que a inibição da 5α redutase, seja ela em animais *knockout* ou por meio do inibidor finasterida, estava associado ao aumento

da resistência à insulina e no surgimento de lesões hepáticas (LIVINGSTONE et al., 2015).

A pele também é um importante órgão extra-gonadal, capaz de sintetizar, metabolizar e armazenar hormônios esteroides e glicocorticoides, tendo essa desregulação associada a importantes condições patológicas, como acne e dermatite, muito desse papel se deve pela pele acumular lipídeos na região de hipoderme (NIKOLAKIS et al., 2016). Inoue e seus colaboradores (2012) descreveram a correlação entre os níveis de estrógenos circulantes e níveis de expressão da enzima aromatase na pele humana, além de apresentarem fibras elásticas mais volumosas (INOUE et al., 2012). O cérebro é outro importante órgão cuja sua homeostasia se mostra sensível a variação dos níveis hormonais (FOKIDIS et al., 2015). Durante muito tempo acreditou-se que o cérebro era somente um órgão receptor desses hormônios, até que estudos demonstraram que o cérebro expressava aromatase e que esta tinha a capacidade de converter testosterona a estrógeno (NAFTOLIN; RYAN; DAVIES, 1975), anos mais tarde foi descrita também a presença da 5 α -redutase ativa, na conversão de testosterona a DHT (CELOTTI et al., 1991). Além de ser sintetizado no cérebro esses hormônios, se ligam a receptores regulando funções cerebrais importantes, como mielinização, cognição, lesões celulares e no envelhecimento (ROSSETTI et al., 2016). Estudos com roedores neonatos expostos a BPA apresentavam menor taxa de mielinização no cérebro o que poderia implicar em déficits cognitivos (TIWARI et al., 2015).

Além dos órgãos citados acima, a próstata também desempenha funções associadas a esteroidogênese. Responsiva a andrógenos, a próstata, é responsável por internalizar as moléculas de testosterona e metabolizá-la a di-hidrotestosterona ou estrógeno (CUNHA et al., 1987). Pinski e seus colaboradores demonstram que linhagens de células tumorais de próstata expostas ao LH, eram capaz de produzir testosterona à partir de moléculas de colesterol, aumentando a ativação do receptor de LH e das enzimas CYP11A1, StAR e 3 β HSB (PINSKI et al., 2011). Foi demonstrado também que no Câncer de Próstata Resistente a Castração (CPRC), a diminuição da proliferação celular se mostrou mais efetiva quando foi combinado tratamento com drogas anti-androgênicas em inibição da enzimas CYP (MOLL et al., 2019). Células tumorais tratadas com andrógenos produzidos pela glândula adrenal foram capazes de metabolizar esses andrógenos em testosterona e se associou esse mecanismo à enzimas CYP (KUMAGAI et al., 2013; WU et al., 2019).

1.4 Estrógeno e Próstata

Há cerca de 25 anos, Wilian Gardner em seu trabalho intitulado “*The prenatal origins of prostate cancer*” propôs que a origem do desenvolvimento do CaP estava associada a fatores ocorridos durante o desenvolvimento embrionário e que provavelmente estaria associada a aumento dos níveis sérico de estrógeno (GARDNER, 1995). Outros dados epidemiológicos do CaP também evidenciam que elevados níveis estrogênicos *in útero* estavam associados ao fato de homens afro-americanos apresentarem maior incidência de CaP quando comparados a caucasianos (HENDERSON et al., 1988; POWELL; MEYSKENS, 2001). Em condições normais, o aumento dos níveis de estrógeno intraprostático acontece em dois momentos, no desenvolvimento intrauterino e no envelhecimento (PRINS; KORACH, 2008). O primeiro aumento nos níveis de estrógeno, em humanos, ocorre no terceiro trimestre gestacional, junto a uma queda nos níveis de testosterona, como consequência ao desenvolvimento de metaplasia escamosa no epitélio prostático que regride imediatamente após o nascimento, quando os níveis de estrogênio têm uma queda abrupta (PRINS; KORACH, 2008; WERNERT et al., 1990; ZONDEK et al., 1986). No envelhecimento, o aumento das concentrações séricas de estrógeno está relacionado a maior incidência de lesões prostáticas (KING; NICHOLSON; ASSINDER, 2006; SALINAS et al., 2014; SANTOS et al., 2019).

Prins e seus colaboradores (2006) avaliaram a próstata de ratos neonatos expostos a altos níveis de estrógeno, onde observaram desregulação entre o receptor de estrógeno alpha ($ER\alpha$), receptor de estrógeno beta ($ER\beta$), receptor de andrógeno (AR) e receptores retinoides (RARs). Além disso, houve alteração da expressão de morfogenos expressos no mesênquima prostático, assim, concluiu que altas doses de estrógeno em períodos de desenvolvimento estão relacionadas com alterações estruturais e funcionais na próstata que podem persistir ao longo da vida, causando assim o *imprinting* estrogênico (PRINS et al., 2006). Para que seja desencadeada uma resposta fisiológica, o estrógeno atua em receptores específicos, os receptores nucleares de estrógeno (ERs). Há dois membros na família dos ER's, o $ER\alpha$ e $ER\beta$, que são moléculas distintas, possuindo estrutura e peso moleculares diferente, sendo o $ER\beta$ ligeiramente menor que o $ER\alpha$ (JIA; DAHLMAN-WRIGHT; GUSTAFSSON, 2015). Na próstata a localização desses receptores varia, de acordo com o processo fisiológico desencadeado, o $ER\alpha$ está localizado nas células estromais enquanto o $ER\beta$ nas células epiteliais (PRINS et al.,

1998; PRINS; BIRCH, 1997). Os receptores desempenham papéis antagônicos na próstata, sendo o ER α , associado a processos de proliferação celular, enquanto o ER β desempenha papel antiproliferativo (DA; LU; WANG, 2015; LATIL et al., 2001; STETTNER et al., 2007; ZHAO; ZHOU; GUSTAFSSON, 2019).

A exposição a concentrações anormais de testosterona durante a gestação é responsável por alteração na organogênese prostática e no padrão de marcação positiva para o AR, ER α e em marcadores de proliferação celular na próstata de gerbilos machos e fêmeas ao nascimento (RAMOS et al., 2020). Gomes e seus colaboradores (2020), demonstraram que a próstata de gerbilos, ao serem expostos ao alumínio na vida pós-natal, apresentavam um aumento nas concentrações séricas de testosterona e da imunomarcção de células ER α positivas, associando esses resultados a um aumento da proliferação de células epiteliais e estromais, bem como um aumento do compartimento epitelial e diminuição do estroma (GOMES et al., 2020). A partir de dados clínicos de pacientes com CaP, Shen e seus colaboradores (2019) estabeleceram a que a marcação positiva para integrina $\alpha 6$ (CD49f) e ER α se correlacionavam com o fenótipo de células troco do CaP, e que apresentavam maior potencial metastático de transição epitéliomesênquima (SHEN et al., 2019). Além disso, o ER α atua em processos inflamatórios e no estabelecimento de lesões pré-neoplásicas (BONKHOF, 2018).

Camundongos ER β $^{-/-}$, apresentam maior taxa de proliferação celular, de células basais (p63 $^{+}$), redução de moléculas pró-apoptóticas e ao envelhecerem desenvolvem lesões hiperplásicas na PV, com aumento da presença de infiltrados inflamatórios (IMAMOV et al., 2004). Dados do transcriptoma desses animais ER β $^{-/-}$, demonstraram aumento da expressão de moléculas pró-inflamatórias e inibidores apoptóticos, com uma regulação negativa de enzimas antioxidantes, diminuição de genes supressores tumorais e do *Pten* (WU et al., 2017). Estudos com células prostáticas benignas, da linhagem PNT1A, mostraram o que antagonista de ER β é capaz de modular positivamente a expressão de enzimas antioxidantes frente a resposta à Zearalenona, uma micotoxina mimética ao estrógeno (KOWALSKA et al., 2019). Células tumorais, PC3 e DU-145, com super expressão de ER β , ao serem expostas a condições de estresse apresentavam diminuição da resposta inflamatórias e de vias de proliferação celular (NF κ B), sugerindo seu papel como agente anti-inflamatório e anticâncer (XIAO et al., 2019).

O estrógeno ainda possui receptores não genômicos, o receptor estrogênico acoplado a proteína G, o chamado GPER1/GPR30 (LEVIN, 2015; PROSSNITZ et al., 2008; SHARMA; PROSSNITZ, 2017). Apesar de terem sido descritos recentemente, muitos trabalhos vêm citando a participação desse receptor na resposta estrogênica, tanto na próstata como em outros órgãos, como pâncreas, fígado, músculo estriado esquelético, tecido adiposo e cérebro (SHARMA; PROSSNITZ, 2017). Estudos experimentais descreveram que a ativação da GPER1 foi responsável por aumentar as concentrações intracelulares de Ca^{2+} , através da ativação da fosfolipase C e do Inositol-1,4,5-trifosfato (IP3), levando essas células à apoptose e ao desenvolvimento da HPB (YANG et al., 2017). Estudos com fibroblastos normais, mostraram que a super expressão do GPER1 leva essas células a limitar a via $\text{ER}\alpha$, através de inibição o AMP cíclico/Proteína quinase A (AMPC/PKA), dando a essas células um fenótipo de fibroblastos associado ao CaP (JIA et al., 2016).

1.5 Epigenética, Programação Fetal e Estrógeno

Compreender e elucidar os mecanismos epigenéticos é um dos maiores desafios para compreender as respostas fenotípicas desencadeadas ao *DOHaD* (GOYAL; LIMESAND; GOYAL, 2019; WADHWA et al., 2009). Apesar desses mecanismos epigenéticos serem bem explorados sob a ótica do desenvolvimento embrionário e da carcinogênese, os dados associados a *DOHaD* e RPM ainda são escassos. O que torna particularmente importante, uma vez que a janela de programação torna o embrião/feto susceptível a diversos fatores, como a nutrição materna e a toxicologia ambiental, impactando nos níveis de expressão gênica, metilação de regiões promotoras no DNA e expressão de microRNAs (HEERWAGEN et al., 2010; HO et al., 2017; KELEHER et al., 2018; SCARANO et al., 2019).

Durante a década de 1940 o biólogo Conrad Waddington cunhou o termo epigenética, ao unir epigênese (estudo do crescimento e diferenciação embrionário) e genética (WADDINGTON, 1940). Com o passar do tempo e a descoberta de novos conhecimentos e técnicas de biologia molecular, a definição de epigenética foi evoluindo e incorporando-os. Skinner e seus colaboradores (2010) definem epigenética como “Fatores e processos moleculares ao redor do DNA que são mitoticamente estáveis e regulam a atividade do genoma independentemente da sequência do DNA”, que engloba as modificações de histonas, a metilação do DNA, alteração na estrutura da

cromatina e a expressão de RNAs não codificantes (ncRNA) (SKINNER; MANIKKAM; GUERRERO-BOSAGNA, 2010).

Os ncRNAs são uma classe heterogênea de moléculas de RNA que tem despertado interesse científico nos últimos anos, principalmente por atuar na regulação de diversos processos biológicos, como expressão gênica, inativação de um dos cromossomos X e de elementos transponíveis (GUTTMAN; RINN, 2012; LODA; HEARD, 2019; OZATA et al., 2019). Uma das classes mais estudadas dos ncRNA, são os miRNAs/microRNAs, uma superfamília de ncRNA, que possuem aproximadamente 22 nucleotídeos e que medeiam o silenciamento gênico, sendo um importante regulador pós-transcricional, os miRNAs estão envolvidos em quase todos os processos celulares sendo essencial para o desenvolvimento embrionário, diferenciação celular, homeostase e no surgimento de desordens (GEBERT; MACRAE, 2019; KROL; LOEDIGE; FILIPOWICZ, 2010).

Os miRNAs podem ser derivados de regiões intrônicas, ou a partir de miRgene, esses últimos são transcritos por uma RNA polimerase II, dando origem ao pri-miRNA, um complexo proteico que checa a molécula e cliva as caudas 5' e 3' de suas extremidades, formando os pré-miRNAs (~70 nucleotídeos), e com o auxílio de exportinas são levadas ao citoplasma. No citoplasma a RNA polimerase III (Dicer) juntamente com proteína de ligação ao RNA TAR (TARBP) e pelo ativador de proteínas da proteína quinase induzida por interferon (PACT), clivam a extremidade do pré-miRNA, uma das fitas é descartada enquanto a outra se liga a proteína argonauta, o complexo miRNA-Argonauta se ligam as fitas de mRNA por complementariedade e pode levar a uma degradação da molécula de mRNA ou simplesmente impedir sua tradução (GEBERT; MACRAE, 2019; KROL; LOEDIGE; FILIPOWICZ, 2010). Na Figura 5 está representado o processo de biogênese e os mecanismos de atuação dos miRNAs.

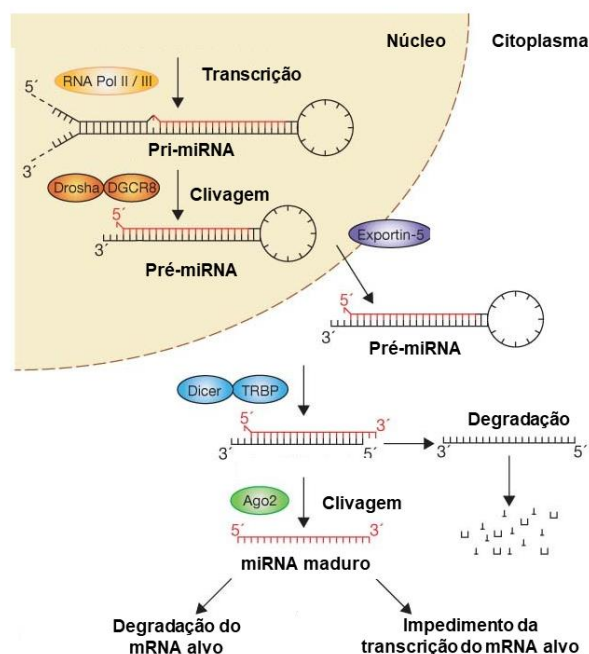


Figura 5. Esquema representativo da biogênese e mecanismos de atuação do miRNA, imagem adaptada de WINTER et al., 2009.

Através de ferramentas de bioinformática, é permitido encontrar quais mRNAs são alvos dos miRNAs. A maioria das plataformas de bancos de dados para análise de miRNA, usam refinados algoritmos para gerar seus resultados, e a maioria deles divide seus resultados em alvos preditos e validados. Sendo os alvos preditos aqueles que apresentam complementariedade entre o mRNA e o miRNA, e os alvos validados são aqueles que através de experimentação comprovaram a interação entre o miRNA-mRNA (GEBERT; MACRAE, 2019; STICHT et al., 2018). Recentemente, alguns trabalhos descrevem que há uma modulação da expressão de miRNAs e genes por eles regulados, frente a variações dos níveis estrogênicos, mostrando que há participação dos estrógenos nas regulações epigenéticas (KLINGE, 2015). Através de dados clínicos de pacientes com câncer de mama depositados no *The Cancer Genome Atlas* (TCGA), foi possível estabelecer diferentes padrões de expressão de miRNA e mRNA em pacientes ER⁺ e ER⁻, tendo esses alvos como possíveis marcadores de pior prognóstico (XIAO et al., 2018). Scarano e seus colaboradores (2019) demonstraram que ratos submetidos a ftalatos durante o desenvolvimento intrauterino apresentavam alteração no padrão de expressão dos miRNAs na PV (SCARANO et al., 2019).

5. Referências Bibliográficas

- ABATE-SHEN, C.; SHEN, M. M.; GELMANN, E. **Integrating differentiation and cancer: The Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis** *Differentiation* Blackwell Publishing Ltd, , 2008.
- ACKERMANN, D. et al. Reference intervals for the urinary steroid metabolome: The impact of sex, age, day and night time on human adult steroidogenesis. **PLoS ONE**, v. 14, n. 3, 1 mar. 2019.
- ARYAL, B. et al. **MicroRNAs and lipid metabolism** *Current Opinion in Lipidology* Lippincott Williams and Wilkins, , 1 jun. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5667558/?report=abstract>. Acesso em: 17 jul. 2020
- ASADI, F. et al. Effect of Molybdenum Nanoparticles on Blood Cells, Liver Enzymes, and Sexual Hormones in Male Rats. **Biological Trace Element Research**, v. 175, n. 1, p. 50–56, 1 jan. 2017.
- ASSALIN, H. B.; GONTIJO, J. A. R.; BOER, P. A. MiRNAs, target genes expression and morphological analysis on the heart in gestational protein-restricted offspring. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, 1 abr. 2019.
- BANERJEE, P. P. et al. Androgen action in prostate function and disease. **American journal of clinical and experimental urology**, v. 6, n. 2, p. 62–77, 2018.
- BARBEITO-ANDRÉS, J. et al. Congenital Zika syndrome is associated with maternal protein malnutrition. **Science Advances**, v. 6, n. 2, 10 jan. 2020.
- BARKER, D. J. et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **BMJ**, v. 301, n. 6746, p. 259–262, 4 ago. 1990.
- BARKER, D. J. P. et al. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. **British Medical Journal**, v. 298, n. 6673, p. 564–567, 1989.
- BARKER, D. J. P.; OSMOND, C. INFANT MORTALITY, CHILDHOOD NUTRITION, AND ISCHAEMIC HEART DISEASE IN ENGLAND AND WALES. **The Lancet**, v. 327, n. 8489, p. 1077–1081, 10 maio 1986.
- BARRON, A. M. et al. Steroidogenic abnormalities in translocator protein knockout mice and significance in the aging male. **Biochemical Journal**, v. 475, n. 1, p. 75–85, 15 jan. 2018.
- BAUTISTA, C. J. et al. Protein restriction in the rat negatively impacts long-chain polyunsaturated fatty acid composition and mammary gland development at the end of gestation. **Archives of Medical Research**, v. 44, n. 6, p. 429–436, ago. 2013.
- BERENDS, L. M. et al. Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes an insulin-resistant phenotype in adipose tissue. **International Journal of Obesity**, v. 37, n. 8, p. 1051–1057, 2013.
- BERENDS, L. M. et al. Programming of central and peripheral insulin resistance by low birthweight and postnatal catch-up growth in male mice. **Diabetologia**, v. 61, n. 10, p. 2225–2234, 1 out. 2018.
- BHUTTA, Z. A. et al. **Severe childhood malnutrition** *Nature reviews. Disease primers*, 21 set. 2017. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrdp201767>. Acesso em: 20 abr. 2020
- BLACK, R. E. et al. **Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries** *The Lancet* Lancet Publishing Group, , 2013.
- BONKHOFF, H. **Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression** *Prostate* John Wiley and Sons Inc., , 1 jan. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29094395/>. Acesso em: 17 jul. 2020
- BORCK, P. C. et al. Protein malnutrition after weaning disrupts peripheral clock and daily insulin secretion in mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 50, p. 54–65, 1 dez. 2017.
- BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, nov. 2018.
- CABEÇO, L. C. et al. Maternal protein restriction induce skeletal muscle changes without altering the MRFs MyoD and myogenin expression in offspring. **Journal of Molecular Histology**, v. 43, n. 5, p. 461–471, out. 2012.
- CAMPISANO, S. E. et al. Protein malnutrition during fetal programming induces fatty liver in adult male offspring rats. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 73, n. 2, p. 275–285, 1 maio

2017.

CAVARIANI, M. M. et al. Maternal protein restriction differentially alters the expression of AQP1, AQP9 and VEGFr-2 in the epididymis of rat offspring. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 3, 1 fev. 2019.

CELOTTI, F. et al. Testosterone metabolism in brain cells and membranes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, n. 4–6, p. 673–678, 1991.

CHIKADA, H. et al. Establishment and analysis of a mouse model that regulates sex-related differences in liver drug metabolism. **Laboratory Investigation**, v. 98, n. 11, p. 1500–1511, 1 nov. 2018.

COLOMBELLI, K. T. et al. Impairment of microvascular angiogenesis is associated with delay in prostatic development in rat offspring of maternal protein malnutrition. **General and Comparative Endocrinology**, v. 246, p. 258–269, 2017.

COUPE, B. et al. The timing of “catch-up growth” affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 297, n. 3, p. R813–R824, 2009.

CUNHA, G. R. et al. The Endocrinology and Developmental Biology of the Prostate *. v. 8, n. 3, p. 338–362, 1987.

CUNHA, G. R. et al. **Development of the human prostate** Elsevier Ltd, , 1 set. 2018.

DA, J.; LU, M.; WANG, Z. Estrogen Receptor Alpha (ER α)-Associated Fibroblasts Promote Cell Growth in Prostate Cancer. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 73, n. 3, p. 793–798, 11 jun. 2015.

DE ARAÚJO, T. V. B. et al. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: Final report of a case-control study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, 1 mar. 2018.

DE MELLO SANTOS, T. et al. Maternal Protein Restriction Modulates Angiogenesis and AQP9 Expression Leading to a Delay in Postnatal Epididymal Development in Rat. **Cells**, v. 8, n. 9, p. 1094, 17 set. 2019.

DE OLIVEIRA, J. C. et al. Protein restriction during the last third of pregnancy malprograms the neuroendocrine axes to induce metabolic syndrome in adult male rat offspring. **Endocrinology**, v. 157, n. 5, p. 1799–1812, 1 maio 2016.

DE ROOIJ, S. R. et al. Impaired insulin secretion after prenatal exposure to the Dutch famine. **Diabetes Care**, v. 29, n. 8, p. 1897–1901, 2006.

DHANABALAN, S.; MATHUR, P.; LATHA, P. TCDD and corticosterone on testicular steroidogenesis and antioxidant system of epididymal sperm in rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 31, n. 9, p. 811–822, 2015.

DUMORTIER, O. et al. Maternal protein restriction leads to pancreatic failure in offspring: Role of misexpressed microRNA-375. **Diabetes**, v. 63, n. 10, p. 3416–3427, 1 out. 2014.

FAGUNDES, A. T. S. et al. Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 5, p. 922–928, nov. 2007.

FOKIDIS, H. B. et al. **Regulation of local steroidogenesis in the brain and in prostate cancer: Lessons learned from interdisciplinary collaboration** Frontiers in Neuroendocrinology Academic Press Inc., , 1 jan. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091302214000776>>. Acesso em: 20 jun. 2020

FORSDAHL, A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? **British Journal of Preventive and Social Medicine**, v. 31, n. 2, p. 91–95, 1977.

FRANCIS, J. C.; SWAIN, A. Prostate organogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 7, 1 jul. 2018.

FRANZEK, E. J. et al. Prenatal exposure to the 1944–45 Dutch “hunger winter” and addiction later in life. **Addiction**, v. 103, n. 3, p. 433–438, mar. 2008.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, S. et al. Alteraciones en los niveles de expresión del microARN-33 en plasma de pacientes con psoriasis. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 105, n. 5, p. 497–503, jun. 2014.

GARDNER, W. A. Hypothesis: The prenatal origins of prostate cancer. **Human Pathology**, v. 26, n. 12, p. 1291–1292, 1995.

GEBERT, L. F. R.; MACRAE, I. J. **Regulation of microRNA function in animals** *Nature Reviews Molecular Cell Biology* Nature Publishing Group, , 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30108335/>>. Acesso em: 17 jul. 2020

GHOLIZADEH, F. et al. The protective effect of *Stevia rebaudiana* Bertoni on serum hormone levels, key steroidogenesis enzymes, and testicular damage in testes of diabetic rats. *Acta Histochemica*, v. 121, n. 7, p. 833–840, 1 out. 2019.

GOMES, L. DA S. et al. Neonatal exposure to aluminum chloride disrupts branching morphogenesis and hormonal signaling of the ventral male prostate and female prostate of gerbils. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 61, 1 set. 2020.

GOULD, J. M. et al. Mouse maternal protein restriction during preimplantation alone permanently alters brain neuron proportion and adult short-term memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 115, n. 31, p. E7398–E7407, 31 jul. 2018.

GOYAL, D.; LINESAND, S. W.; GOYAL, R. Epigenetic responses and the developmental origins of health and disease. *The Journal of endocrinology*, v. 242, n. 1, p. T105–T119, 1 jul. 2019.

GR, C. Mesenchymal-epithelial Interactions During Androgen-Induced Development of the Prostate. *Progress in clinical and biological research*, v. 171, 1985.

GUTTMAN, M.; RINN, J. L. **Modular regulatory principles of large non-coding RNAs** *Nature* Nature Publishing Group, , 16 fev. 2012. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nature10887>>. Acesso em: 17 jul. 2020

GUZMÁN, C. et al. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *Journal of Physiology*, v. 572, n. 1, p. 97–108, abr. 2006.

GUZMÁN, C. et al. Maternal protein restriction during pregnancy and/or lactation negatively affects follicular ovarian development and steroidogenesis in the prepubertal rat offspring. *Archives of Medical Research*, v. 45, n. 4, p. 294–300, 2014.

HA, M. et al. Triclosan suppresses testicular steroidogenesis via the miR-6321/JNK/Nur77 cascade. *Cellular Physiology and Biochemistry*, v. 50, n. 6, p. 2029–2045, 1 nov. 2018.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. **Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis** *Diabetologia* Springer-Verlag, , jul. 1992. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1644236/>>. Acesso em: 27 jul. 2020

HEERWAGEN, M. J. R. et al. **Maternal obesity and fetal metabolic programming: A fertile epigenetic soil** *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, , set. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20631295/>>. Acesso em: 17 jul. 2020

HENDERSON, B. E. et al. The early in utero oestrogen and testosterone environment of blacks and whites: Potential effects on male offspring. *British Journal of Cancer*, v. 57, n. 2, p. 216–218, 1988.

HENRY, G. H. et al. A Cellular Anatomy of the Normal Adult Human Prostate and Prostatic Urethra. *Cell Reports*, v. 25, n. 12, p. 3530–3542.e5, 18 dez. 2018.

HO, S. M. et al. Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders. *Reproductive Toxicology*, v. 68, p. 85–104, 1 mar. 2017.

HOEK, H. W.; BROWN, A. S.; SUSSER, E. **The Dutch Famine and schizophrenia spectrum disorders**. Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology. *Anais...Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, ago. 1998

IMAMOV, O. et al. Estrogen receptor β regulates epithelial cellular differentiation in the mouse ventral prostate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 25, p. 9375–9380, 22 jun. 2004.

INCA. **O Câncer de Próstata** | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata>>. Acesso em: 15 abr. 2020.

INOUE, T. et al. Sex steroid synthesis in human skin in situ: The roles of aromatase and steroidogenic acute regulatory protein in the homeostasis of human skin. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 362, n. 1–2, p. 19–28, 15 out. 2012.

ITTMANN, M. Anatomy and histology of the human and murine prostate. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 8, n. 5, p. a030346, 1 maio 2018.

JAHAN-MIHAN, A. et al. The role of maternal dietary proteins in development of metabolic syndrome in offspring. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9185–9217, 2015.

JHA, P. et al. Systems Analyses Reveal Physiological Roles and Genetic Regulators of Liver Lipid Species. **Cell Systems**, v. 6, n. 6, p. 722– 733.e6, 27 jun. 2018.

JIA, B. et al. GPR30 promotes prostate stromal cell activation via suppression of *era* expression and its downstream signaling pathway. **Endocrinology**, v. 157, n. 8, p. 3023–3035, 1 ago. 2016.

JIA, M.; DAHLMAN-WRIGHT, K.; GUSTAFSSON, J. Å. **Estrogen receptor alpha and beta in health and disease** *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* Bailliere Tindall Ltd, , 1 ago. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26303083/>>. Acesso em: 26 jun. 2020

JIN, J. et al. Effects of maternal low-protein diet on microbiota structure and function in the jejunum of huzhu bamei suckling piglets. **Animals**, v. 9, n. 10, 1 out. 2019.

KELEHER, M. R. et al. Maternal high-fat diet associated with altered gene expression, DNA methylation, and obesity risk in mouse offspring. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, 1 fev. 2018.

KESAVAN, K.; DEVASKAR, S. U. **Intrauterine Growth Restriction: Postnatal Monitoring and Outcomes** *Pediatric Clinics of North America* W.B. Saunders, , 1 abr. 2019.

KHAZAEI, R. et al. Maternal protein restriction during perinatal life affects lung mechanics and the surfactant system during early postnatal life in female rats. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, 1 abr. 2019.

KING, K. J.; NICHOLSON, H. D.; ASSINDER, S. J. Effect of increasing ratio of estrogen:androgen on proliferation of normal human prostate stromal and epithelial cells, and the malignant cell line LNCaP. **Prostate**, v. 66, n. 1, p. 105–114, 1 jan. 2006.

KLINGE, C. M. **miRNAs regulated by estrogens, tamoxifen, and endocrine disruptors and their downstream gene targets** *Molecular and Cellular Endocrinology* Elsevier Ireland Ltd, , 15 dez. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25659536/>>. Acesso em: 17 jul. 2020

KOWALSKA, K. et al. Estrogen receptor β plays a protective role in zearalenone-induced oxidative stress in normal prostate epithelial cells. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 504–513, 15 maio 2019.

KROL, J.; LOEDIGE, I.; FILIPOWICZ, W. **The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay** *Nature Reviews Genetics*, 27 set. 2010. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrg2843>>. Acesso em: 17 jul. 2020

KUMAGAI, J. et al. Intratumoral conversion of adrenal androgen precursors drives androgen receptor-activated cell growth in prostate cancer more potently than de novo steroidogenesis. **Prostate**, v. 73, n. 15, p. 1636–1650, nov. 2013.

LANGLEY-EVANS, S. C.; MCMULLEN, S. **Developmental origins of adult disease** *Medical Principles and Practice* Med Princ Pract, , fev. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20134170/>>. Acesso em: 27 jul. 2020

LANGLEY-EVANS, S. C.; PHILLIPS, G. J.; JACKSON, A. A. In utero exposure to maternal low protein diets induces hypertension in weanling rats, independently of maternal blood pressure changes. **Clinical Nutrition**, v. 13, n. 5, p. 319–324, 1994.

LATIL, A. et al. Evaluation of Androgen, Estrogen ($ER\alpha$ and $ER\beta$), and Progesterone Receptor Expression in Human Prostate Cancer by Real-Time Quantitative Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction Assays. **Cancer Research**, v. 61, n. 5, p. 1919 LP – 1926, 3 mar. 2001.

LEVIN, E. R. Extranuclear Steroid Receptors Are Essential for Steroid Hormone Actions. **Annual Review of Medicine**, v. 66, n. 1, p. 271–280, 14 jan. 2015.

LIU, X. et al. Maternal protein restriction alters VEGF signaling and decreases pulmonary alveolar in fetal rats. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 6, p. 3101–3111, 2014.

LIVINGSTONE, D. E. W. et al. 5 α -Reductase type 1 deficiency or inhibition predisposes to insulin resistance, hepatic steatosis, and liver fibrosis in rodents. **Diabetes**, v. 64, n. 2, p. 447–458, 1 fev. 2015.

LODA, A.; HEARD, E. **Xist RNA in action: Past, present, and future** *PLoS Genetics* Public Library of Science, , 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31537017/>>. Acesso em: 17 jul. 2020

LOPES, A. et al. Gestational protein restriction induces CA3 dendritic atrophy in dorsal

hippocampal neurons but does not alter learning and memory performance in adult offspring. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 31, n. 3, p. 151–156, maio 2013.

LUCAS, A. **Programming by early nutrition in man**. Ciba Foundation symposium Ciba Found Symp, , 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1855415/>>. Acesso em: 27 jul. 2020

MA, W. et al. Maternal protein restriction depresses the duodenal expression of iron transporters and serum iron level in male weaning piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 7, p. 923–929, 14 abr. 2017.

MAEDA, N. et al. Accurate determination of tissue steroid hormones, precursors and conjugates in adult male rat. **The Journal of Biochemistry**, v. 153, n. 1, p. 63–71, 10 out. 2012.

MARKER, P. C. et al. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. **Developmental Biology**, v. 253, n. 2, p. 165–174, 2003.

MARQUART, T. J. et al. miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 27, p. 12228–12232, 6 jul. 2010.

MARTIN-GRONERT, M. S. et al. 5-HT2A and 5-HT2C receptors as hypothalamic targets of developmental programming in male rats. **DMM Disease Models and Mechanisms**, v. 9, n. 4, p. 401–412, 1 abr. 2016.

MARTIN, L. J. et al. Maternal High-Protein and Low-Protein Diets Perturb Hypothalamus and Liver Transcriptome and Metabolic Homeostasis in Adult Mouse Offspring. **Frontiers in Genetics**, v. 9, 11 dez. 2018.

MARTINS, I. P. et al. Protein-restriction diet during the suckling phase programs rat metabolism against obesity and insulin resistance exacerbation induced by a high-fat diet in adulthood. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 57, p. 153–161, 1 jul. 2018.

MATHERS, C. et al. **Special thanks to the Technical Advisory Group of the UN IGME for providing technical guidance on methods for child mortality estimation**. [s.l.: s.n.].

MCNEAL, J. E. Normal histology of the prostate. **The American journal of surgical pathology**, v. 12, n. 8, p. 619–33, ago. 1988.

MELAU, C. et al. Characterization of Human Adrenal Steroidogenesis during Fetal Development. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 104, n. 5, p. 1802–1812, 2019.

MERICQ, V. et al. Long-term metabolic risk among children born premature or small for gestational age. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 1, p. 50–62, 19 jan. 2017.

MILLER, W. L. **Steroidogenesis: Unanswered Questions** Trends in Endocrinology and Metabolism Elsevier Inc., , 1 nov. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276017301133>>. Acesso em: 15 abr. 2020

MOLL, J. M. et al. A bypass mechanism of abiraterone-resistant prostate cancer: Accumulating CYP17A1 substrates activate androgen receptor signaling. **Prostate**, v. 79, n. 9, p. 937–948, 15 jun. 2019.

MORADI, A. et al. **Beyond the biomarker role: prostate-specific antigen (PSA) in the prostate cancer microenvironment** Cancer and Metastasis Reviews Springer, , 1 set. 2019.

MORIMOTO, S. et al. Developmental programming of aging of isolated pancreatic islet glucose-stimulated insulin secretion in female offspring of mothers fed low-protein diets in pregnancy and/or lactation. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 3, n. 6, p. 483–488, 1 dez. 2012.

MURAKAMI, K. et al. Aromatase in normal and diseased liver. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v. 41, n. 1, 28 fev. 2018.

NAFTOLIN, F.; RYAN, K. J.; DAVIES, I. J. The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. **Recent Progress in Hormone Research**, v. Vol.31, p. 295–319, 1 jan. 1975.

NIKOLAKIS, G. et al. **Skin steroidogenesis in health and disease** Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders Springer New York LLC, , 1 set. 2016.

NORDSTRÖM, T. et al. Prostate-specific antigen (PSA) density in the diagnostic algorithm of prostate cancer. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v. 21, n. 1, p. 57–63, 1 abr. 2018.

ONU, O. DAS N. U. **Goal 2: end hunger and promote sustainable agricultur**. Disponível em: <<https://sustainabledevelopment.un.org/sdg2>>. Acesso em: 21 abr. 2020.

OZATA, D. M. et al. **PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions** *Nature Reviews Genetics* Nature Publishing Group, , 1 fev. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41576-018-0073-3>>. Acesso em: 17 jul. 2020

PINSKI, J. et al. Effect of luteinizing hormone on the steroidogenic pathway in prostate cancer. *Prostate*, v. 71, n. 8, p. 892–898, 1 jun. 2011.

PORTELA, L. et al. Increased oxidative stress and cancer biomarkers in the ventral prostate of older rats submitted to maternal malnutrition. *Molecular and Cellular Endocrinology*, p. 111148, 31 dez. 2020.

POWELL, I. J.; MEYSKENS, F. L. African American men and hereditary/familial prostate cancer: Intermediate-risk populations for chemoprevention trials. *Urology*, v. 57, n. 4 SUPPL. 1, p. 178–181, 2001.

PRINS, G. S. et al. Estrogen receptor- β messenger ribonucleic acid ontogeny in the prostate of normal and neonatally estrogenized rats. *Endocrinology*, v. 139, n. 3, p. 874–883, 1998.

PRINS, G. S. et al. The role of estrogens in normal and abnormal development of the prostate gland. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1089, p. 1–13, nov. 2006.

PRINS, G. S.; BIRCH, L. Neonatal estrogen exposure up-regulates estrogen receptor expression in the developing and adult rat prostate lobes. *Endocrinology*, v. 138, n. 5, p. 1801–1809, 1997.

PRINS, G. S.; KORACH, K. S. **The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease** *Steroids* NIH Public Access, , mar. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2262439/>>. Acesso em: 20 jun. 2020

PRINS, G. S.; PUTZ, O. Molecular signaling pathways that regulate prostate gland development. *Differentiation*, v. 76, n. 6, p. 641–659, 2008.

PROSSNITZ, E. R. et al. **The ins and outs of GPR30: A transmembrane estrogen receptor** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* J Steroid Biochem Mol Biol, , abr. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18406603/>>. Acesso em: 17 jul. 2020

QASEM, R. J. et al. Maternal protein restriction during pregnancy and lactation alters central leptin signalling, increases food intake, and decreases bone mass in 1 year old rat offspring. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 43, n. 4, p. 494–502, 2016.

RAMADAN, W. S.; ALSHIRAIHI, I.; AL-KARIM, S. Effect of maternal low protein diet during pregnancy on the fetal liver of rats. *Annals of Anatomy*, v. 195, n. 1, p. 68–76, jan. 2013.

RAMOS, J. G. et al. Developmental changes induced by exogenous testosterone during early phases of prostate organogenesis. *Experimental and Molecular Pathology*, v. 115, 1 ago. 2020.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in Young Men after Famine Exposure in Utero and Early Infancy. *New England Journal of Medicine*, v. 295, n. 7, p. 349–353, 12 ago. 1976.

RAYNER, K. J. et al. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science*, v. 328, n. 5985, p. 1570–1573, 18 jun. 2010.

RINALDI, J. C. et al. Implications of intrauterine protein malnutrition on prostate growth, maturation and aging. *Life Sciences*, v. 92, n. 13, p. 763–774, 2013.

RIZZI, V. H. G. et al. Impact of long-term high-fat diet intake gestational protein-restricted offspring on kidney morphology and function. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, v. 8, n. 1, p. 89–100, 1 fev. 2017.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L. et al. Maternal protein restriction in pregnancy and/or lactation affects seminiferous tubule organization in male rat offspring. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, v. 3, n. 05, p. 321–326, 8 out. 2012.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, 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, 21 nov. 2014.

ROSSETTI, M. F. et al. **Oestrogens and Progestagens: Synthesis and Action in the Brain** *Journal of Neuroendocrinology* Blackwell Publishing Ltd, , 1 jul. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27306650/>>. Acesso em: 20 jun. 2020

SALINAS, C. A. et al. **Prostate cancer in young men: An important clinical entity** *Nature Reviews Urology* Nature Publishing Group, , 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24818853/>>. Acesso em: 13 jul. 2020

SANTOS, S. A. A. et al. Maternal Low-Protein Diet Impairs Prostate Growth in Young Rat

Offspring and Induces Prostate Carcinogenesis With Aging. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. XX, n. Xx, p. 1–9, 2018.

SANTOS, S. A. A. et al. Maternal Low-Protein Diet Impairs Prostate Growth in Young Rat Offspring and Induces Prostate Carcinogenesis With Aging. **The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences**, v. 74, n. 6, p. 751–759, 16 maio 2019.

SANTOS, S. A. A. et al. Identification of potential molecular pathways involved in prostate carcinogenesis in offspring exposed to maternal malnutrition. **Aging**, v. 12, n. 20, 13 out. 2020.

SCARANO, W. R. et al. **Cell junctions in the prostate: an overview about the effects of Endocrine Disrupting Chemicals (EDCS) in different experimental models** **Reproductive Toxicology** Elsevier Inc., , 1 out. 2018.

SCARANO, W. R. et al. Exposure to an Environmentally Relevant Phthalate Mixture During Prostate Development Induces MicroRNA Upregulation and Transcriptome Modulation in Rats. **Toxicological Sciences**, v. 171, n. 1, p. 84–97, 14 jun. 2019.

SCHULZ, L. C. **The Dutch hunger winter and the developmental origins of health and disease** **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** Proc Natl Acad Sci U S A, , 28 set. 2010.

SENE, L. B. et al. Gestational low-protein intake enhances whole-kidney MIR-192 and MIR-200 family expression and epithelial-to-mesenchymal transition in rat adult male offspring. **Journal of Experimental Biology**, v. 221, n. 10, 1 maio 2018.

SHARMA, G.; PROSSNITZ, E. R. G-protein-coupled estrogen receptor (GPER) and sex-specific metabolic homeostasis. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l.] Springer New York LLC, 2017. v. 1043p. 427–453.

SHEN, Y. et al. Estrogen receptor α -NOTCH1 axis enhances basal stem-like cells and epithelial-mesenchymal transition phenotypes in prostate cancer. **Cell Communication and Signaling**, v. 17, n. 1, 23 maio 2019.

SKINNER, M. K.; MANIKKAM, M.; GUERRERO-BOSAGNA, C. **Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology** **Trends in Endocrinology and Metabolism** NIH Public Access, , abr. 2010. Disponível em: </pmc/articles/PMC2848884/?report=abstract>. Acesso em: 17 jul. 2020

STETTNER, M. et al. The relevance of estrogen receptor- β expression to the antiproliferative effects observed with histone deacetylase inhibitors and phytoestrogens in prostate cancer treatment. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 6, n. 10, p. 2626–2633, 1 out. 2007.

STICHT, C. et al. miRWalk: An online resource for prediction of microRNA binding sites. **PloS one**, v. 13, n. 10, p. e0206239, 2018.

SU, Y. et al. Maternal low protein isocaloric diet suppresses pancreatic β -cell proliferation in mouse offspring via miR-15b. **Endocrinology**, v. 157, n. 12, p. 4782–4793, 1 dez. 2016.

SUZUKI, K. **The developing world of DOHaD**. Journal of Developmental Origins of Health and Disease. **Anais...** Cambridge University Press, 1 jun. 2018

TARRY-ADKINS, J. L. et al. Insulin-signalling dysregulation and inflammation is programmed trans-generationally in a female rat model of poor maternal nutrition. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018.

THOMSON, A. A. **Mesenchymal mechanisms in prostate organogenesis** **Differentiation** Blackwell Publishing Ltd, , 2008.

TIMMS, B. G. **Prostate development: A historical perspective** **Differentiation** Blackwell Publishing Ltd, , 2008.

TIWARI, S. K. et al. Bisphenol-A Impairs Myelination Potential During Development in the Hippocampus of the Rat Brain. **Molecular Neurobiology**, v. 51, n. 3, p. 1395–1416, 1 jun. 2015.

TOIVANEN, R.; SHEN, M. M. Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification. **Development**, v. 144, n. 8, p. 1382–1398, 2017.

VARUZZA, M. B. et al. Impact of gestational low protein diet and postnatal bisphenol A exposure on chemically induced mammary carcinogenesis in female offspring rats. **Environmental Toxicology**, v. 34, n. 11, p. 1263–1272, 1 nov. 2019.

VERZE, P.; CAI, T.; LORENZETTI, S. **The role of the prostate in male fertility, health and disease** **Nature Reviews Urology** Nature Publishing Group, , 1 jul. 2016.

VINSON, G. P. **Functional zonation of the adult mammalian adrenal cortex** **Frontiers in**

NeuroscienceFrontiers Research Foundation, , 15 jun. 2016.

WADDINGTON, C. H. Organisers and genes. **Organisers and genes.**, 1940.

WADHWA, P. D. et al. **Developmental origins of health and disease: Brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms**Seminars in Reproductive MedicineSemin Reprod Med, , set. 2009.

WANG, H. et al. miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2. **Scientific reports**, v. 6, p. 23170, 16 mar. 2016.

WANG, M. C. et al. Purification of a Human Prostate Specific Antigen. **Journal of Urology**, v. 197, n. 2, p. S148–S152, 1 fev. 2017a.

WANG, N. et al. Maternal low protein exposure alters glucose tolerance and intestinal nutrient-responsive receptors and transporters expression of rat offspring. **Life Sciences**, v. 243, 15 fev. 2020.

WANG, Y. et al. **Steroidogenesis in leydig cells: Effects of aging and environmental factors**ReproductionBioScientifica Ltd., , 2017b.

WERNERT, N. et al. Morphological and immunohistochemical investigations of the utriculus prostaticus from the fetal period up to adulthood. **The Prostate**, v. 17, n. 1, p. 19–30, 1990.

WINTER, J. et al. **Many roads to maturity: MicroRNA biogenesis pathways and their regulation**Nature Cell BiologyNature Publishing Group, , 2009. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ncb0309-228>>. Acesso em: 17 jul. 2020

WU, W. F. et al. Estrogen receptor β , a regulator of androgen receptor signaling in the mouse ventral prostate. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 19, p. E3816–E3822, 9 maio 2017.

WU, Y. et al. Adrenal androgens rescue prostatic dihydrotestosterone production and growth of prostate cancer cells after castration. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 486, p. 79–88, 15 abr. 2019.

XIAO, B. et al. Analysis of the miRNA–mRNA–lncRNA network in human estrogen receptor-positive and estrogen receptor-negative breast cancer based on TCGA data. **Gene**, v. 658, p. 28–35, 5 jun. 2018.

XIAO, L. et al. Estrogen receptor β suppresses inflammation and the progression of prostate cancer. **Molecular Medicine Reports**, v. 49, n. 5, p. 3555–3563, 1 maio 2019.

YACOB, J. H.; OTO, A. **MR Imaging of Prostate Zonal Anatomy**Radiologic Clinics of North AmericaW.B. Saunders, , 1 mar. 2018.

YANG, D. L. et al. Role of GPR30 in estrogen-induced prostate epithelial apoptosis and benign prostatic hyperplasia. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 487, n. 3, p. 517–524, 3 jun. 2017.

YARDE, F. et al. **Prenatal famine, birthweight, reproductive performance and age at menopause: the Dutch hunger winter families study** | Human Reproduction | Oxford Academic. Disponível em: <<https://academic.oup.com/humrep/article/28/12/3328/688081>>. Acesso em: 6 abr. 2020.

ZAMBRANO, E. et al. A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. **Journal of Physiology**, v. 571, n. 1, p. 221–230, fev. 2006.

ZAMBRANO, E. et al. **Fetal programming of sexual development and reproductive function**Molecular and Cellular EndocrinologyMol Cell Endocrinol, , 25 jan. 2014.

ZHANG, H.; WANG, K. Downregulation of MicroRNA-33-5p Protected Bupivacaine-Induced Apoptosis in Murine Dorsal Root Ganglion Neurons Through GDNF. **Neurotoxicity Research**, v. 35, n. 4, p. 860–866, 15 maio 2019.

ZHAO, L. et al. miR-33-5p knockdown attenuates abdominal aortic aneurysm progression via promoting target adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1 expression and activating the PI3K/Akt signaling pathway. **Perfusion (United Kingdom)**, 2019.

ZHAO, L.; ZHOU, S.; GUSTAFSSON, J.-Å. Nuclear receptors: recent drug discovery for cancer therapies. **Endocrine Reviews**, v. 40, n. 5, 14 mar. 2019.

ZHENG, J. et al. Maternal low-protein diet modulates glucose metabolism and hepatic microRNAs expression in the early life of offspring. **Nutrients**, v. 9, n. 3, 1 mar. 2017.

ZHU, G. et al. Sonic and Desert Hedgehog signaling in human fetal prostate development. **Prostate**, v. 67, n. 6, p. 674–684, 1 maio 2007.

ZMORA, N. et al. **The Role of the Immune System in Metabolic Health and Disease** *Cell Metabolism* Cell Press, , 7 mar. 2017.

ZONDEK, T. et al. Hormone levels in the foetal and neonatal prostate. *Acta Endocrinologica*, v. 112, n. 3, p. 447–456, 1986.