

IANA SULY SANTOS KATZ

**MIELOTOXICIDADE POR 7,12-DIMETILBENZANTRACENO E SUA
REPERCUSSÃO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DOS
CAMUNDONGOS AIRMAX E AIRMIN**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em
Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de
Doutor em Ciências.

Área de concentração: Imunologia

Orientador: Dr. Orlando Garcia Ribeiro Filho

Versão Original

São Paulo

2012

RESUMO

KATZ, I. S. S. **Mielotoxicidade por 7,12-Dimetilbenzantraceno e sua repercussão na resposta imunológica dos camundongos AIRmax e AIRmin.** 2012. 121 f. Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O DMBA é um agente genotóxico que reage diretamente com o DNA, induzindo citotoxicidade, dependente de p53. O processo de metabolismo do DMBA é dependente da ativação de receptor aril hidrocarbonetos (AHR). Camundongos geneticamente selecionados para alta (AIRmax) ou baixa (AIRmin) resposta inflamatória aguda apresentam completa segregação dos alelos de baixa (*Ahr^d*) ou alta (*Ahr^{bl}*) afinidade para HPA, respectivamente. Essas linhagens apresentam diferenças importantes na sensibilidade aos efeitos tóxicos e carcinogênicos do DMBA. Neste trabalho estudamos os efeitos tóxicos do DMBA na medula óssea e sua repercussão na resposta imunológica destes camundongos. Para isso os animais foram tratados com uma única injeção ip de DMBA em óleo de oliva. A produção de anticorpos IgG anti-HGG e a migração celular para o tecido subcutâneo após injeção sc de Biogel, como agente inflamatório, foram suprimidas nos animais AIRmin tratados com DMBA. As células da medula óssea foram enumeradas e caracterizadas por análise morfológica e citometria de fluxo. A hipocelularidade da medula óssea observada em camundongos AIRmin após 24 horas do tratamento com DMBA é reflexo da diminuição principalmente de neutrófilos em estágio final de diferenciação. Por outro lado, houve um aumento no número de blastos e neutrófilos imaturos após o tratamento. A análise da morte celular com PI/Anexina V revelou um aumento de células em apoptose e necrose. Além disso, o tratamento DMBA causou em camundongos AIRmin um bloqueio na progressão do ciclo celular da fase G1 para S em células Lin⁻. Esses resultados condizem com o aumento da expressão das proteínas p53 e p21. A cinética de dano no DNA em células da medula óssea por ensaio cometa revelou que o reparo da lesão foi mais rápido em camundongos AIRmax. Os níveis de expressão do RNAm do gene *parp-1*, cuja função é restaurar a integridade genômica, triplicou em AIRmax, enquanto que nos animais AIRmin aumentou a expressão de *p53* e *caspase-3*. Adicionalmente, observamos perda da capacidade proliferativa e de diferenciação de células da medula óssea de animais AIRmin quando estimuladas in vitro com diferentes fatores hematopoéticos. Nossos resultados demonstraram que o tratamento com DMBA causa citotoxicidade e genotoxicidade de longa duração nas células da medula óssea de camundongos AIRmin e bloqueio do ciclo celular de células indiferenciadas afetando o desenvolvimento das respostas imunológicas. Por outro lado, camundongos AIRmax são mais resistentes aos efeitos tóxicos do DMBA e apresentaram ainda maior capacidade na remoção da lesão do DNA, o que sugere que essa linhagem pode ter um eficiente mecanismo de reparo do DNA. Finalmente, essa diferença de sensibilidade ao DMBA pode estar também relacionada com o polimorfismo do *Ahr*, indicando que este gene pode ser um candidato na regulação da resposta inflamatória aguda, bem como a sensibilidade aos hidrocarbonetos.

Palavras-chave: Medula óssea. DMBA. *Ahr*. Ciclo celular. Camundongos. Toxicidade.

ABSTRACT

KATZ, I. S. S. **Myelotoxicity by 7,12-Dimetilbenzantraceno and its impact on immune response in AIRmax and AIRmin mice.** 2012. 121 p. PhD thesis (Immunology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

DMBA is a genotoxic agent that reacts with DNA directly, inducing p53-dependent cytotoxicity. The process of DMBA metabolism depends on the activation of the aryl hydrocarbon receptor (Ahr). Mice genetically selected for high (AIRmax) or low (AIRmin) acute inflammatory response presented a complete segregation of Ahr alleles endowed with low (*Ahr^d*) or high (*Ahr^{bl}*) affinity to PAHs, respectively. AIR mice differ in susceptibility to toxic and carcinogenic effects induced by DMBA. Therefore, in this study we investigated the myelotoxic effects of DMBA treatment on the BM and its impact on the immune response. Animals were treated *in vivo* with a single i.p. dose of DMBA in olive oil. Specific IgG anti-HGG antibody production and the cellular migration to the inflammatory site after sc injection of Biogel were suppressed after treatment with DMBA in AIRmin mice. BM cells were characterized by flow cytometry and morphology. Hypocellularity was observed in BM from AIRmin at 24 hours post DMBA treatment, mostly in the terminal neutrophil differentiation. Nevertheless there was an increase of blasts and immature neutrophils at 1 and 50 days after treatment. Cell death analysis with PI/Annexin V revealed high levels of apoptosis and necrosis. Also, DMBA treatment caused in AIRmin mice a blockade in the cell cycle progression from G1 to S phase in Lin⁻ cells. These results are consistent with the high levels of p53 and p21 proteins. The kinetics of cell repair demonstrated the early removal of DNA lesion in BM cells from DMBA-treated AIRmax mice. The *parp-1* gene showed 3 fold increased mRNA expression in AIRmax cells 12h after DMBA treatment, however in AIRmin mice there was an increase in *p53* and *caspase-3* mRNA expression. Additionally, we showed low differentiation and proliferation capacities of bone marrow cells from DMBA treated AIRmin after *in vitro* stimulation with different hematopoietic factors. Our results demonstrated DMBA produced long lasting genotoxicity and cytotoxicity in BM cells in AIRmin mice and blocking cell cycle of undifferentiated cells, affecting immune response development. On the other hand, AIRmax mice have larger capacity in the removal of DNA lesion, which suggests that it has an efficient DNA repair mechanism. Finally, the *Ahr* polymorphism might be correlated with the phenotypes of susceptibility to DMBA, suggests *Ahr* as a candidate gene in contributing to the differential inflammatory responses and differential susceptibility to hydrocarbons.

Key words: Bone marrow. DMBA. Ahr. Cell cycle. Mice. Toxicity

1 INTRODUÇÃO

O sistema hematopoiético, devido às suas características biológicas, pode sofrer alterações quando exposto à ação de fatores ou substâncias nocivas presentes no ambiente. Entre os fatores agressores do sistema hematopoiético, são bem conhecidos os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), as radiações ionizantes (raios-X e partículas atômicas), radiações ultravioletas e os agrotóxicos.

1.1 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) constituem uma família de compostos caracterizada por possuírem dois ou mais anéis aromáticos condensados. Os HPA são uma classe de substâncias amplamente distribuídas no ambiente, muitas das quais com potencial tóxico. São formados principalmente nos processos de combustão incompleta de matérias orgânicas como a exaustão de motores a diesel ou a gasolina, a queima de carvão, a exaustão de plantas de incineração de rejeitos, a fumaça de cigarro (BOSTROM et al., 2002). Por se tratar de compostos químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico, são também conhecidos como Xenobióticos.

A dioxina (tetraclorodibenzodioxina ou 2,3,7,8-TCDD), o benzeno, e o benzopireno são exemplos de HPA encontrados em abundância no meio ambiente. Já o 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) é um protótipo sintético de HPA. Dentre os vários efeitos, estes xenobióticos causam citotoxicidade, genotoxicidade e conseqüentemente, carcinogênese e imunossupressão, conforme resultados obtidos experimentalmente em modelo murino (KAWABATA; WHITE, 1987; LADICS et al., 1991; LUSTER; ROSENTHAL, 1993; GALVAN et al., 2003; YOON et al., 2002).

Em modelo murino o DMBA tem efeitos profundos sobre o sistema imune, abrangendo, principalmente, diminuição da celularidade no baço ou na medula óssea. (DEAN et al., 1985; WARD et al., 1984; GALVAN et al., 2003, GAO et al., 2008). Conseqüentemente camundongos tratados com esse xenobiótico apresentam diminuição acentuada na citotoxicidade mediada por célula T, na resposta proliferativa ao mitógeno T dependente e na indução da produção de citocinas (DEAN et al., 1985). Ocorre também uma diminuição do número de células pré B, interferindo na fisiologia normal de células B, que leva a uma situação crítica para a expansão dos linfócitos B antígeno-específicos durante a seleção clonal. Com isso, o desenvolvimento das células produtoras de anticorpos e de memória fica prejudicado, resultando na ineficácia da

resposta imune humoral (DEAN et al., 1986; THURMOND et al., 1987; YAMAGUCHI et al., 1997; HEIDEL et al., 1999; GAO et al., 2008). Estes processos que afetam o sistema imune induzem a diminuição de resistência dos animais expostos aos HPAs, a agentes infecciosos e a tumores transplantados (WARD et al., 1984; DEAN et al., 1986).

O DMBA também é conhecido como sendo um potente carcinógeno após ser oxidado para a forma ativa, DMBA-3,4-dihydrodiol (DEAN et al., 1985; LADISCS et al., 1991; GALVAN et al., 2003). Os produtos da metabolização deste xenobiótico ligam-se covalentemente a bases do DNA promovendo ataque a grupamentos nucleofílicos dessa molécula, formando adutos. Estes estão associados a mutações no DNA (NEBERT et al., 1990; HEIDEL et al., 2000; RUNDLE et al., 2000; GALVAN et al., 2003), podendo mediar distúrbios na formação do fuso durante a divisão celular com a indução de aneuploidias, poliploidia e instabilidade cromossômica, em linhagens celulares (WU et al., 1997; MATSUOKA et al., 1998). Tais alterações cromossômicas podem induzir a carcinogênese ou morte da célula (AGRAWAL; PANDEY, 2009).

1.2 PROCESSO DE METABOLIZAÇÃO DO DMBA

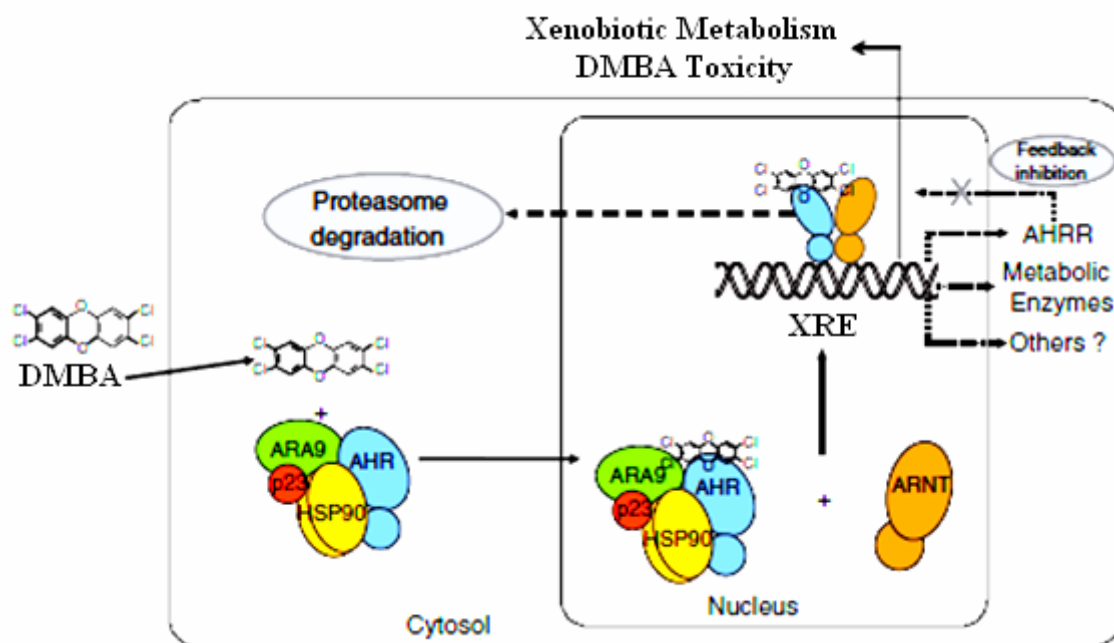
O processo de toxicidade produzida pelo DMBA envolve uma cascata de eventos que se inicia pela sua ligação ao receptor de Aril hidrocarboneto (AHR). Esse receptor é uma proteína básica do tipo hélice-alça-hélice (bHLH) e membro da superfamília PAS (Per-Arnt-Sim), cujo peso molecular varia de 104 a 95 kda (HANKINSON, 1995).

Quando ocorre a ligação dos HPAs com o AHR este se dissocia do complexo de proteínas *heat-shock protein 90* (hsp90) e p23, e dirige-se para o núcleo onde é heterodimerizado com uma proteína estruturalmente relacionada, a ARNT (do inglês: Ah receptor nuclear translocator). O complexo agonista-AHR-ARNT interage com sequências específicas do DNA onde existe o elemento de resposta a xenobióticos (XRE) (do inglês: xenobiotic responsive element), localizado nas regiões promotoras ou nas sequências de genes alvos que irão codificar enzimas metabolizantes da fase 1 (biotransformação) e da fase 2 (excreção), responsáveis pela transformação do DMBA em produtos tóxicos (VRZAL; ULRICHOVÁ; DVORÁK, 2004). A função biológica destas heme-proteínas pertencentes a família do citocromo P450 (CYP) é promover a transformação de várias moléculas lipofílicas, em moléculas hidrossolúveis e de fácil excreção pelo organismo humano (HANKINSON, 1995).

Para regular a função do AHR existe o AHRR (Aryl Hydrocarbon Receptor Repressor) que compete com o AHR regulando a expressão de genes envolvidos na metabolização de HPA (LAI et al., 1996) (**Figura 1**).

O DMBA é, primeiramente, metabolizado no fígado por uma das enzimas da família do citocromo P450, a CYP1A1, formando 3,4-dihydrodiol. Na medula óssea este composto é transformado em DMBA-3,4 diol-1,2-epoxido pela enzima CYP1B1 que é expressa constitutivamente pelas células do estroma desse compartimento. Camundongos *knockout* para o gene CYP1B1 e tratados com DMBA, não sofrem os efeitos tóxicos, como apoptose de células pré B ou imunossupressão, demonstrando que essa enzima é essencial na metabolização desses HPA. (HEIDEL et al., 1999; GAO et al., 2005).

Figura 1 - Mecanismo molecular da ativação da expressão gênica pelo AHR.



FONTE: Modificado de Stevens et al., 2009

1.3 POLIMORFISMO DO AHR

Análise filogenética da evolução molecular do AHR tem revelado que esta proteína tem origem ancestral, 450–510 milhões de anos atrás, e está presente em todos os grupos de vertebrados e de alguns invertebrados, mostrando que este gene é altamente conservado entre diferentes espécies (HAHN et al., 1997). O locus *Ahr* é polimórfico em camundongos e em humanos. Estudos em 13 diferentes linhagens de camundongos, incluindo 8 linhagens isogênicas, 2 subespécies *Mus musculus* e três espécies adicionais *Mus*, demonstraram polimorfismo genético representado por 4

alelos onde o alelo *Ahr^d*, que codifica o receptor de baixa afinidade, está presente nas linhagens DBA/2, SJL, CAST/Ei e 129/SvJ; os alelos *Ahr^{b1}*, *Ahr^{b2}* e *Ahr^{b3}* que codificam o receptor de alta afinidade, estão presentes, respectivamente, nas linhagens C57Bl/6, em Balb/cB4, C3H/HeJ, A/J e CBA/J, e em camundongos MOLF/Ei, SPRETUS/E, PANCEV/Ei^b, CAROLI/E (THOMAS et al., 2002). Estes alelos são definidos por variações no exon 7, estrutural e no exon 9, funcional (SCHIMIDT et al., 1993; THOMAS et al., 2002).

O polimorfismo no exon 7 é observado por RFLP, ou seja, encontramos a perda do sítio de uma enzima de restrição, a Eco47III no nucleotídeo 752 (AGCGCT→AGCACT) (SCHIMIDT et al., 1993). O polimorfismo do exon 9 resulta em uma troca de aminoácidos alanina por valina na posição 375 do sítio de ligação do receptor, o que leva a uma diminuição de afinidade (THOMAS et al., 2002). Assim, camundongos C57BL/6, que apresentam receptores Ah de alta afinidade, possuem o alelo *Ahr^{b1}* que é caracterizado por manter o sítio da enzima de restrição no exon 7 e Alanina na posição 375, enquanto que os camundongos DBA/2, que apresentam receptor de baixa afinidade, têm o alelo *Ahr^d* cuja proteína possui um defeito no sítio de ação da enzima e apresenta a substituição por Valina na posição 375 (SCHIMIDT et al., 1993).

1.4 FUNÇÕES DO AHR

Além de regular a expressão de uma variedade de genes que codificam as enzimas do citocromo P450, o AHR regula genes envolvidos com proliferação celular, produção de quimiocinas e citocinas, apoptose, diferenciação de fagócitos, funções imunológicas e reprodutivas (MARLOWE; PUGA, 2005; KNAAPEN et al., 2007).

Alguns estudos apontam para mecanismos interativos entre o receptor AHR e o fator de transcrição NF-κB, que está relacionado com as respostas fisiológicas e patológicas, incluindo modulação imune, resposta inflamatória e apoptose (TIAN; RABSON; GALLO, 2002). Estudos realizados em humanos e em modelos experimentais mostraram que durante infecções por bactérias (*Escherichia coli*), vírus (Influenza), protozoários (*Plasmodium*) ou ainda durante processos inflamatórios (hepatite, colite), ocorre diminuição na expressão ou na atividade das CYP (MORGAN, 1997).

No mesmo sentido, Thatcher e colaboradores estudaram, em camundongos *Knockout* para o gene *Ahr*, os efeitos da fumaça de cigarro ou de endotoxina bacteriana (LPS) no desenvolvimento de uma reação inflamatória. Os autores verificaram que,

após inalação dos produtos, estes animais desenvolveram reação inflamatória aguda no pulmão, com aumento da atividade do NF- κ B, quando comparados com os animais normais. Nesse estudo os autores sugerem que na ausência do AHR há ativação exacerbada do NF- κ B, resultando no aumento de múltiplos produtos pró-inflamatórios detectados no lavado bronco-alveolar e na circulação, indicando, com isso, que o AHR e NF- κ B estão envolvidos em mútua regulação (THATCHER et al., 2007). Outro estudo demonstra que a ativação do AHR pela dioxina 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) diminui a colite induzida por DSS (do inglês: Dextran Sodium Sulfate) possivelmente pela produção aumentada de Prostaglandina E2 provocada pela dioxina (TAKAMURA et al., 2010).

Além de se ligar a compostos exógenos como DMBA, o receptor AHR liga-se também com alta afinidade aos compostos endógenos como os aminoácidos derivados do triptofano (indolo[3,2-b]carbazole), lipoxina A4 e prostaglandinas, sugerindo que este receptor seja sítio de ligação para diferentes tipos de compostos (HELFERICH; DENISON 1991; PERDEW; BABBS 1991; SCHALDACH et al., 1999; SEIDEL et al., 2001).

Esse receptor liga-se também ao hormônio de crescimento, responsável pelo desenvolvimento e crescimento normal de embriões de roedores e humanos, sugerindo assim função fisiológica do AHR (ABBOTT et al. 1994; PETERS; WILEY 1995). Tem sido muito estudada a ligação do AHR com o crescimento rápido de células normais e tumorais na ausência de ligantes exógenos. Por exemplo, o gene *Ahr* tem alta expressão em fibroblastos e linfócitos ativados por mitógenos (VAZIRI et al., 1996; MARCUS et al., 1998) e nos diversos tipos de tumores em roedores e humanos, incluindo leucemias e tumor mamário (TROMBINO et al., 2000; ABDELRAHIM et al., 2003; HAYASHIBARA et al., 2003). Por essa razão esse receptor pode estar envolvido no crescimento anormal de células tumorais.

Evidências sugerem que o AHR modifica o equilíbrio de células Treg/Th17 através da modificação de citocinas. Em estudos de indução de encefalomielite autoimune (EAE) em camundongos, foi demonstrado que quando o AHR é ativado por um ligante exógeno, como a dioxina, ocorrendo aumento de células Treg. Estas células têm a função de inibir a secreção de IL-12 impedindo ativação e diferenciação de LTCD4⁺ efectoras, produzem citocinas inibitórias (como IL-10 e TGF- β) e podem tolerizar células apresentadoras de antígenos por interações célula-célula suprimindo assim a EAE. Por outro lado, a ativação do AHR por um ligante endógeno, 6-formylindolo [3,2-b] carbazol (FICZ) interfere no desenvolvimento das células Treg,

umentando a diferenciação de células TH17 com consequente aumento da severidade da EAE nesses camundongos (QUITANA et al., 2008).

Tem sido relatado que alguns produtos naturais, presentes na dieta, tais como 7,8-dihydrorutacarpine, dibenzoylmethanes, curcumina e carotenóides podem inativar a via de sinalização do AHR exercendo um efeito antagonista e competindo assim com os ligantes clássicos, como os HPAs (DENISON; NAGY, 2002). Outros compostos como os flavonoides sintéticos, semelhante a β -naftoflavona (5,6-benzoflavone) e α -naftoflavona (7,8-benzoflavone: α -NF) são conhecidos também como antagonistas do AHR (LEE et al., 2007). Em murinos e linhagens de hepatócitos humanos o α -NF impede a toxicidade induzida pela dioxina, competindo com TCDD na ligação com o AHR e impede assim que este receptor medeie à ativação transcricional dos genes da família do citocromo P450 (MERCHANT et al., 1990; WHILHELMSSON et al., 1994; GASIEWICZ; RUCCI, 1991). Além disso, o α -NF diminui a incidência e a gravidade das malformações fetais causadas pela exposição à dioxina, DMBA ou metilcolantreno (SHIROMIZU; MATTISON, 1985; JANG et al., 2007).

Um estudo recente sugere que na ausência do ligante exógeno, o AHR interage com o complexo Cdk4/Ciclina D1 facilitando a progressão do ciclo celular pela hiperfosforilação da proteína de Retinoblastoma (Rb) (BARHOOVER et al., 2010). Quando essa interação é interrompida por ligante exógeno, como o DMBA ou mesmo a dioxina, o AHR interage com uma Rb hipofosforilada, regulando negativamente a ciclina D1, resultando na repressão da fase G1 do ciclo celular (CURRIER et al., 2005; BARHOOVER et al., 2010).

1.5 CICLO CELULAR

O ciclo celular compreende uma seqüência complexa de eventos que garante a transmissão correta, para as células filhas, de uma cópia completa do genoma. É um processo que ocorre em todas as células somáticas e engloba uma série de passos coordenados ao longo do ciclo, assegurando o correto crescimento e desenvolvimento do organismo (VAN DEN HEUVEL, 2005).

Esse processo é dividido em duas fases principais, a intérfase e a mitose. Ao longo da intérfase ocorre a duplicação do DNA e a preparação para a fase seguinte. A intérfase é dividida em quatro fases: fase G0 (Gap 0), onde as células se encontram em repouso; fase G1 (Gap 1), no qual a célula responde a estímulos positivos ou negativos, sendo levada ao crescimento, diferenciação, multiplicação ou apoptose, bem como à produção de enzimas e outras moléculas necessárias para a próxima fase do ciclo; fase S

(síntese), onde ocorre a síntese de DNA; e a fase G2 (Gap 2) que ocorre a síntese de RNA, de proteínas e outras estruturas necessárias para o início da divisão celular. É também na fase G2 onde se inicia a condensação da cromatina, facilitando as fases de metáfase e anáfase da mitose. Durante a mitose ocorre divisão celular propriamente dita. Essa fase é subdividida em prófase, prometáfase, metáfase, anáfase, telófase (VAN DEN HEUVEL, 2005).

Na fase G0 é importante haver um balanço de proteínas reguladoras chamadas quinases dependentes de ciclinas (CDKs) e ciclinas. As CDKs são ativadas no ciclo celular de maneira fase dependente, sendo necessária a associação com as ciclinas para que sejam ativadas. As ciclinas obedecem a um padrão cíclico controlado, aparecendo e desaparecendo durante as fases do ciclo celular. As CDKs ligam-se a ciclinas específicas formando complexos ciclina-CDK, assim, CDK4 une-se à ciclina D, enquanto que a CDK2 une-se às ciclinas E e A. À medida que o ciclo celular progride ocorre a inativação de um tipo de complexo e a consecutiva formação de outro (VAN DEN HEUVEL, 2005).

Quando as células são expostas a agentes danosos ao DNA sofrem bloqueio do ciclo celular para permitir a reparação do DNA danificado e/ou morte celular por apoptose, evitando a fixação de mutações (KASTAN; BARTEK, 2004). Nesses processos, a proteína supressora de tumor, p53 age como indutor de transcrição ligando-se diretamente ao promotor de seus genes alvos envolvidos no bloqueio do ciclo celular. Nesse sentido, p53 é capaz de controlar a expressão de p21, levando ao bloqueio do ciclo celular na fase G1, impedindo as células, que sofreram ação desses agentes, dividirem-se (GARNER; RAJ, 2008). A proteína supressora de tumor, p21, liga-se às ciclinas D e E, inibindo a cinases dependentes destas ciclinas (cdk 2 e cdk 4) necessárias para a progressão do ciclo celular. Além deste papel no controle do “checkpoint” da fase G1, p53 também controla o ciclo celular na fase G2 através da inibição do complexo B/Cdk2 (SAN CAR et al., 2004). A função da p21 nesse processo é ligar-se e inativar o complexo ciclina D1/Cdk4 resultando na hipofosforilação da proteína de retinoblastoma (RB), bloqueando o ciclo celular. Isso ocorre porque o Rb é um regulador negativo do fator de transcrição E2F, necessário para a expressão de genes da fase S do ciclo celular (VAN DEN HEUVEL, 2005; GARNER; RAJ, 2008).

Outro controlador que atua ao término da fase G1 é a p27 (Kip1), que funciona como um bloqueador da atividade de quinase do complexo ciclina E/Cdk2, causando também uma parada no ciclo celular (LEE; KIM, 2009). Nas células em estágio quiescente (G0) do ciclo celular, a concentração de p27 é alta, ao contrário do que

ocorre com as ciclinas D. Quando as células reiniciam o ciclo, passando de G0 para G1, as concentrações de p27 caem, enquanto que as de p21 aumentam (AGAMI; BERNARDS, 2002).

Essa regulação permite à célula iniciar a progressão do ciclo, o crescimento e a multiplicação, a diferenciação celular, ou, ainda, permanecer em condição de latência. Quando ocorrem falhas nesses mecanismos regulatórios, a célula pode ser direcionada à apoptose ou ocasionar o desenvolvimento tumoral (KASTAN; BARTEK, 2004).

1.6 MECANISMOS DE MORTE CELULAR

Kerr, Wyllie e Currie (1972) demonstraram a existência de pelo menos dois tipos distintos de morte celular (KERR; WYLLIE; CURRIE, 1972). Um deles é a morte por necrose, uma forma violenta e rápida de degradação celular, que afeta um grande número de células e é caracterizada pelo aumento no volume citoplasmático, destruição de organelas e rompimento da membrana citoplasmática, levando à liberação de fluidos para o meio extracelular desencadeando um processo inflamatório que pode lesar células vizinhas. Outro tipo de morte celular, denominada apoptose, ocorre em células individualizadas e se caracteriza por condensação do citoplasma e núcleo, convulsão da membrana celular seguida pela sua fragmentação e formação de corpos apoptóticos, sem liberação do conteúdo do citoplasma para o meio extracelular e não desencadeia reação inflamatória (CHO et al., 2010; KUSHNAREVA; NEWMAYER, 2010).

A abertura do poro de permeabilidade mitocondrial causa, simultaneamente, ativação das caspases (potencialmente levando à apoptose) e depleção de ATP (potencialmente causando necrose). Quando as caspases são diretamente ativadas pelos receptores da superfície celular ou granzime B e quando o poro de permeabilidade se abre em apenas algumas mitocôndrias, permitindo que as demais sintetizem ATP a célula entra no processo de apoptose. Por outro lado, se o poro de permeabilidade é aberto rapidamente e a célula não pode obter energia suficiente a partir da glicólise anaeróbia, a depleção do ATP leva a célula morrer por necrose (CHO et al., 2010; KUSHNAREVA; NEWMAYER, 2010).

Em condições patológicas, o grande número de células que sofre apoptose pode exceder a capacidade fagocitária. Nessas circunstâncias, os corpos apoptóticos não-fagocitados sofrem processo secundário de necrose, com resposta inflamatória (CHO et al., 2010; FULDA et al., 2010).

O processo de apoptose pode ser deflagrado por estímulos externos através de receptores específicos na superfície celular chamados de “receptores da morte”, como o

CD95 e o receptor TNF- α ou por estímulos internos de estresse intracelular, tais como lesão do DNA ou perturbações no ciclo celular ou nas vias metabólicas. Estas diferentes vias culminam com a ativação de proteases conhecidas como caspases, que têm papel fundamental no processo de morte celular (GUICCIARDI; GORES, 2009).

As caspases estão presentes no citosol sob a forma de pró-enzimas inativas, tornando-se ativas após clivagem proteolítica à altura de resíduos do ácido aspártico. Uma vez ativada, a maioria das caspases tem a habilidade de catalizar a ativação de múltiplos outros membros dessa família, resultando em amplificação da cascata proteolítica. Alguns membros, tais como a caspase-8 e caspase-9, ocupam posição proximal na cascata proteolítica e agem como reguladores e iniciadores, enquanto outros, como a caspase-3, são mais distais e agem como efetores da fragmentação celular (GUICCIARDI; GORES, 2009). Atualmente sabe-se que a apoptose desempenha um papel importante no desenvolvimento embrionário, na homeostase tecidual e no desenvolvimento do sistema imune. Alterações no processo apoptótico podem levar ao aparecimento de diversas patologias, desde doenças neurodegenerativas até doenças autoimunes e câncer (FULDA et al., 2010). Além disso, tem um papel importante na linfopoiese na medula óssea normal, pois durante o desenvolvimento de linfócitos B, os que são potencialmente auto reativos ou que seus genes são indevidamente reorganizados, são eliminados por apoptose (MÜSCHEN et al, 2002).

Embora a apoptose em células da medula óssea *in vivo* não tenha sido caracterizada após o tratamento com DMBA, um estudo *in vitro* com precursores de células B em co-cultura com células do estroma da medula óssea demonstraram indução de apoptose após tratamento com este xenobiótico (YAMAGUCHI et al., 1997; HEIDEL et al., 2000; PAGE et al., 2003). Neste sentido, quando o DNA dessas células sofre danos pelos metabólitos reativos do DMBA, a célula pode iniciar o processo de apoptose ou o DNA é reparado e a célula se mantém viva. Um processo essencial para mediar a hipocelularidade que ocorre em animais tratados com DMBA seria a ativação do receptor de TNF- α que regula positivamente PKR (do inglês: Protein kinase RNA-activated) este por sua vez fosforila a p53 ativando mecanismos de morte celular e impedindo que as células, que possuem o DNA danificado, proliferem (PAGE et al. 2004, 2003). Esse mecanismo procede primariamente pela ativação da caspase-8 (PAGE et al., 2002).

1.7 GENOTOXICIDADE

Uma lesão no ácido nucléico, denominada lesão genotóxica, corresponde a uma alteração na estrutura física da dupla hélice, perturbando as funções que necessitam da integridade conformacional do polímero, tais como a replicação e transcrição. Essas lesões são variadas e incluem quebras simples, quebras duplas, alquilações das bases, perda de bases e oxidações das bases, entre outras (MARNETT; PLASTARAS, 2001; PAGES; FUCHS, 2002; HOUTGRAFF et al. 2006; ROOS; KAINA 2006).

Imediatamente após o estresse genotóxico, as vias de sinalização são ativadas pela presença do dano, reduzindo assim a velocidade de progressão do ciclo celular, a fim de favorecer a reparação do material genético alterado (HOUTGRAAF et al. 2006; BARTEK; LUKAS 2007). No entanto, algumas vezes, o sistema de reparação de DNA permite que a célula tolere o dano no DNA e, embora não consiga corrigir a lesão eficientemente, garanta sua sobrevivência. Desse modo, as lesões removidas de forma ineficiente acabam gerando a restauração imperfeita da sequência de nucleotídeos original, causando mutações (JEGGO; LOBRICH 2006). Estas mutações gênicas podem atingir alvos críticos, como proto-oncogenes, genes supressores de tumor, genes envolvidos na reparação de DNA ou de indução de apoptose, acarretando alterações no ciclo celular, acúmulo de mutações, mutações cromossômicas, podendo desencadear a transformação celular maligna.

O DMBA reage principalmente com as bases de purinas no DNA, formando muitos adutos estáveis ou depurinados, induzindo reparo por excisão de nucleotídeos ou por excisão de base, respectivamente. Quando ocorre um erro no reparo do DNA há formação de mutações heteroduplex que são fixadas nas células filhas após a replicação da célula mutada. Estas mutações ocorrem principalmente nos oncogenes *H-ras*, *K-ras*, *N-ras* e *p53* (HSUE et al., 2008; CHAKRAVARTI et al., 2008). Os genes da família Ras codificam as proteínas G, que se ligam ao GTP para ativar ou inibir a proliferação celular, e quando mutados, estes genes codificam a proteína anormal que não mais depende da presença de GTP ligado para sinalizar e estimular a proliferação celular, e assim as células mutadas proliferam descontroladamente. Geralmente, a mutação que ocorre nesse gene é a troca de apenas um par de bases, isto é, mutação de ponto.

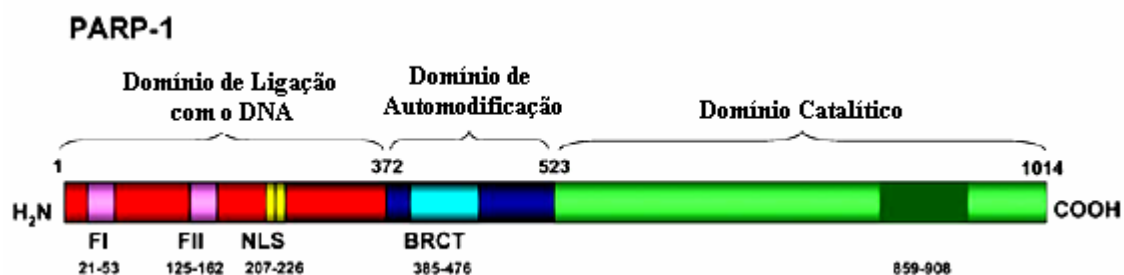
1.8 POLY ADP RIBOSE POLYMERASE (PARP)

Proteínas específicas são ativadas em resposta a danos no DNA gerados diretamente por agentes genotóxicos, como radicais de oxigênio, radiações ionizantes e agentes alquilantes. Dentre essas proteínas, está a superfamília de enzimas chamada

poli-(ADP-ribose) polimerase, PARP, (AMÉ et al., 2004), uma proteína nuclear de 116 kDa, que usa a molécula NAD⁺ para catalisar a síntese de polímeros de ADP-ribose, que são adicionados a uma série de proteínas nucleares (D'AMOURS et al., 1999)

Dentre as 18 proteínas da família do PARP, a PARP-1 vem sendo muito estudada por ser o membro da superfamília com expressão mais abundante. Essa proteína nuclear possui três domínios funcionais: (**Figura 2**). O domínio de ligação de DNA, localizado na região N-terminal, o qual contém a sequência de localização nuclear (NLS) e dois *Zn fingers*; o domínio de automodificação que medeia a autoribosilação e contém o BRCT (BRCA-domínio C-terminal), o qual medeia interações proteína-proteína; o domínio catalítico C-terminal, que é essencial para a conversão de NAD⁺ em ADP-ribose (MEYER-FICCA et al., 2005). Dentro da NLS está o peptídeo DEVD, que pode ser clivado pela caspase-3 e caspase-7. Quando isto ocorre, há o desligamento do domínio catalítico, fazendo com que a enzima perca sua função (OLIVER et al., 1998).

Figura 2 - Estrutura do gene *parp-1*.



FONTE: Modificado de Meyer-Ficca et al., 2005

O papel da PARP-1 no reparo de DNA deve-se à sua capacidade de modificar bases transitórias, mediante a poli-ADP-ribosilação de proteínas que interferem na estrutura da cromatina, especialmente as histonas (D'AMOURS et al., 1999), tornando acessíveis às proteínas que participam do complexo de reparo do DNA. Além disso, PARP-1 também participa do recrutamento e regulação das proteínas de reparo do DNA como XRCC1 (X-ray repair cross-complementing factor), WRN (Werner syndrome nuclear protein), DNA-polimerase β e DNA ligase III (AMÉ et al., 2004; LEPPARD et al., 2003). A atividade de PARP-1 durante o reparo do DNA ocorre por excisão de bases (BER) (do inglês: Base excision repair) e reparo do dano em cadeia simples (SSBR) (do inglês: Single-strand break repair) (SHALL; MURCIA, 2000).

Muitos estudos apontam para a participação de PARP-1 na regulação da replicação do DNA. Sabe-se que a PARP-1 tem associação física com proteínas envolvidas na replicação do DNA, tais como DNA: polimerases α e β , DNA helicase, DNA ligase e topoisomerase I e II. Sugere-se que PARP-1 pode desempenhar um papel regulador da replicação do DNA no controle da progressão de replicação ou de algumas enzimas associadas a esse processo (SIMBULAN-ROSENTHAL et al., 1996; DANTZER et al., 1998; BAUER et al., 2001).

Embora o papel da PARP durante o processo de apoptose não esteja bem esclarecido, estudos recentes sugerem que esta proteína poderia estar associada à morte celular. Neste sentido, Kaufmann e colaboradores (1993) mostraram que durante a fase inicial de apoptose, PARP-1 é clivada por caspase-3 em um único local, separando-a do seu domínio catalítico e inativando a enzima. (KAUFMANN et al. 1993). Portanto a clivagem dessa proteína pode promover a desativação de mecanismos essenciais de vigilância genômica. Em contrapartida, a inibição da atividade da caspase pode provocar necrose ao invés de apoptose (HIRSCH et al. 1998). Portanto, a indução de apoptose protege o organismo de danos de tecidos necróticos. Por outro lado, a falha de células para inativar totalmente as PARPs pode levar ao enorme consumo de NAD1 e depleção de energia, contribuindo para a morte celular por necrose (SZABO et al., 1998).

Alguns estudos demonstraram também a associação do papel da proteína PARP em danos no DNA mediada por p53. Ensaio com esplenócitos, células da medula óssea, células embrionárias e fibroblastos primários de camundongos deficientes de PARP mostraram um acúmulo de p53 após o tratamento com agentes alquilantes (DE MURCIA et al. 1997; OLIVER et al., 1998).

Além desses aspectos, PARP-1 é necessária para ativação do fator de transcrição NF- κ B e para conseqüente expressão dos genes dependentes das respostas a estímulos pró-inflamatórios e ao estresse genotóxico. Na ausência de PARP-1 há translocação de NF- κ B para o núcleo, porém não há ligação deste fator de transcrição com as sequências promotoras dos genes por ele regulados. Isto indica que deve existir um controle nuclear de NF- κ B por parte de PARP-1, que pode ser por interação direta destas proteínas ou por modificações da poli-ADP-ribolização do NF- κ B (HASSA et al., 2005).

Inibidores de PARP-1 vêm sendo testados em alguns tipos de leucemias, com aumento de efeito anti-tumoral. Alguns trabalhos demonstram que inibidores de PARP-1 potencializam os efeitos citotóxicos da temozolomida nos blastos leucêmicos e células leucêmicas (TENTORI et al., 2001; HORTON et al, 2009). Portanto, parece claro que

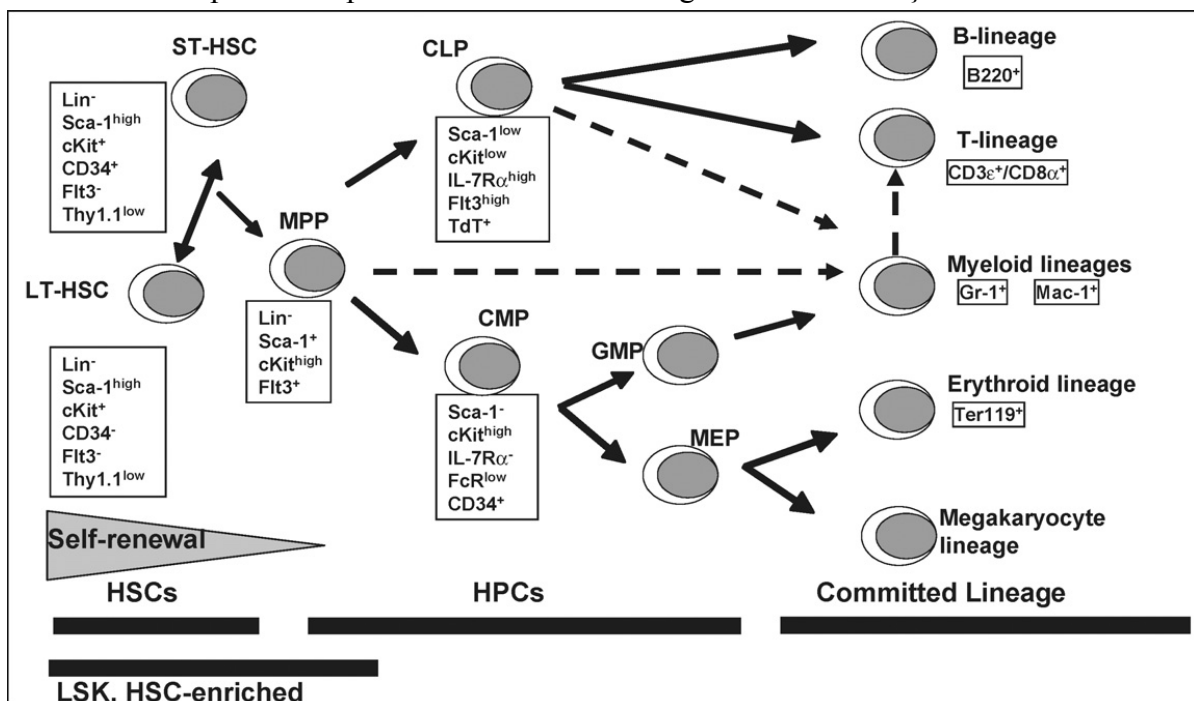
uma terapia com inibidor de PARP-1 pode ser eficaz para controlar o crescimento tumoral e evitar a progressão da doença.

1.9 HEMATOPOIESE E DOENÇAS HEMATOLÓGICAS

O processo de formação, desenvolvimento e maturação de células sanguíneas maduras a partir das células-tronco hematopoiéticas (HSC) (do inglês: Hematopoietic Stem Cell) é denominado de hematopoiese. As HSCs possuem a capacidade de diferenciarem-se em todos os tipos de células sanguíneas, sendo assim responsáveis pela manutenção, renovação e proteção do organismo.

Existem dois tipos principais de células progenitoras no sistema hematopoiético: as progenitoras mielóides comuns (CMPs) e as progenitoras linfóides comuns (CLPs). Cada uma destas células irá originar tipos específicos de células precursoras. Sendo que, as CMPs originam os progenitores eritróides-megacariócitos (MEPs) e os granulócitos-macrófagos (GMPs) capazes de gerar eritrócitos, megacariócitos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos. Enquanto as linfóides originam principalmente as células precursoras de linfócitos (SINGH et al., 2009). Com o processo de amadurecimento as células da medula óssea vão ganhando ou perdendo marcadores de superfície específicos (**Figura 3**).

Figura 3 - Esquema simplificado da hematopoiese, indicando os marcadores de superfície expressos em diferentes estágios de diferenciação.



FONTE: Original de Singh et al. (2009).

Quando o sistema hematopoiético é exposto a agentes tóxicos como os hidrocarbonetos aromáticos, podem ocorrer algumas perturbações no processo de diferenciação e/ou maturação das células da medula óssea. Dentre os distúrbios hematológicos decorrentes dessa exposição estão leucopenia, anemia aplástica, síndromes mielodisplásicas e leucemias.

A leucopenia refere-se a um decréscimo na contagem do número total de células leucocitárias decorrentes da diminuição de um ou mais elementos e que são mensurados a partir de valores de referência utilizados como padrão de normalidade.

As anemias aplásticas são caracterizadas pelos seguintes achados diagnósticos: pancitopenia periférica e alterações na medula óssea (depleção celular e presença de hipoplasia grave ou aplasia). Nesses quadros há substituição das células hematopoiéticas por tecido adiposo. Há evidências clínicas de que os casos de anemia aplástica desenvolvem-se como conseqüência de um defeito qualitativo em uma população de células-tronco (YOUNG, 2002).

As síndromes mielodisplásicas (SMD) são um grupo de transtornos hematológicos clonais adquiridos pelas células tronco hematopoiéticas e têm como conseqüência a ineficaz proliferação e diferenciação celular. Estes distúrbios caracterizam-se pela ineficiência na hematopoiese de linhagens celulares que determina uma anormal proliferação e diferenciação destas células como alto risco de evoluir para uma leucemia mieloide aguda. O diagnóstico positivo é dado com a observação de uma ou mais citopenias por pelo menos 2 meses: hipocelularidade na medula óssea acompanhada de apoptose de precursores hematopoiéticos e atipias medulares em pelo menos uma série celular (YOUNG, 2002; NIMER, 2008).

Leucemias são neoplasias malignas das células primitivas hematopoiéticas que se originam na medula óssea e se distribuem pela circulação e órgãos. Representam um grupo de doenças hematológicas malignas caracterizadas pela expansão clonal de células hematopoiéticas com proliferação descontrolada, diminuição de apoptose e bloqueio de diferenciação. As leucemias mais frequentes são classificadas segundo o grau de diferenciação das células (agudas ou crônicas) e a linhagem predominante de células, mielóides ou linfóides. São descritas: Leucemia Mieloblástica Aguda, Leucemia Linfoblástica Aguda, Leucemia Mielóide Crônica e Leucemia Linfocítica Crônica (JAMRA; LORENZI, 1997; GOLDSTEIN, 2010). A incidência varia de acordo com a idade, o tipo de leucemia e o sexo acometido. Algumas condições genéticas podem também aumentar o risco de leucemia. Por exemplo, pessoas com anomalias

cromossômicas como a Síndrome de Down têm maior probabilidade de desenvolver leucemias. (GOLDESTEIN, 2010).

Dentre essas neoplasias a leucemia mielóide aguda (LMA) é a que mais acomete indivíduos expostos aos HPA (KHALADE et al., 2010). É uma doença clonal do tecido hematopoético caracterizada pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mielóide, ocasionando produção insuficiente de células sangüíneas maduras normais (HANAHAN; WEINBERG, 2000). As causas mais comuns são alterações sangüíneas pré-leucêmicas, tais como a síndrome mielodisplásica ou síndrome mieloproliferativa. A LMA é caracterizada por neutropenia, anemia e plaquetopenia e aumento de blastos na medula óssea. O mecanismo que leva a célula progenitora a perder o controle da proliferação celular permanece incerto, mas a ativação de protooncogenes e mutações em genes supressores de tumor que também regulam o ciclo celular parecem estar envolvidas na patogênese das leucemias (NIMER, 2008).

Um estudo feito por Khalade e colaboradores evidenciou que a exposição crônica ao benzeno de trabalhadores de indústria de sapato, de borracha ou de tinta aumenta o risco da LMA com padrão dose resposta, isto é, quanto maior a exposição dessas pessoas ao benzeno maior a chance de desenvolverem a LMA (KHALADE et al., 2010).

1.10 MODELO ANIMAL NO ESTUDO DA CARCINOGENÊSE

Em modelo murino o aumento da incidência de linfomas vem sendo observado em várias linhagens isogênicas quando expostas ao benzeno ou ao DMBA (BUTERS et al., 1999; GOLDSTEIN, 2010). Contudo, tem sido difícil o desenvolvimento de um modelo animal na indução de LMA por exposição a xenobióticos. Um estudo em linhagens de camundongos C3H/He heterozigotos quanto à deficiência de p53 demonstrou que a exposição crônica ao benzeno (300 ppm; 6hs/dia; 5 dias/semana por 26 semanas) aumentou o desenvolvimento da leucemia mielóide em 37,5% nesses animais, enquanto em camundongos selvagens ou homozigotos quanto à deficiência de p53 houve aumento da incidência de linfomas, evidenciando o envolvimento desse gene no processo de transformação maligna em células hematopoiéticas (KAWASAKI et al., 2009).

No estudo da carcinogênese de pele, têm sido amplamente utilizadas linhagens de camundongos que, casualmente ou por seleção genética, apresentam predominância de alelos de resistência ou de susceptibilidade ao desenvolvimento tumoral. Linhagens de camundongos susceptíveis (CAR-S) e resistentes (CAR-R) à carcinogênese de pele

em dois estágios obtidas por Seleção Genética Bidirecional a partir de uma população geneticamente heterogênea, diferem quanto ao desenvolvimento e progressão do tumor de pele quimicamente induzido (BANGRAZI et al., 1990).

Do mesmo modo camundongos selecionados para alta ou baixa produção de anticorpos apresentaram diferenças na sensibilidade à carcinogênese de pele em protocolo de dois estágios DMBA/TPA: Camundongos maus respondedores mostraram-se mais resistentes do que os bons produtores de anticorpos, sugerindo que alelos relevantes para baixa resposta poderiam contribuir para a resistência à tumorigênese cutânea (IBAÑEZ et al., 1999).

Neste mesmo sentido, linhagens de camundongos geneticamente selecionados para alta ou baixa reatividade inflamatória aguda (AIR), apresentam diferenças na sensibilidade a carcinógenos. Camundongos AIRmax submetidos ao protocolo de aplicação epicutânea de DMBA/TPA apresentaram maior resistência ao desenvolvimento de tumor de pele do que os AIRmin, tanto no número de papilomas (multiplicidade) quanto na porcentagem de animais acometidos (incidência) (BIOZZI et al., 1998; DE SOUZA et al., 2008). O desenvolvimento de massa tumoral decorrente da implantação de células de melanoma humano (SKMEL-28) e murinos (B16F10 e S91) no tecido subcutâneo e a carcinogênese química pulmonar provocada por uretana também discriminou estas duas linhagens (MARIA et al., 2001; MARIA et al., 2003; RIBEIRO et al., 2005). Essas linhagens apresentaram uma completa fixação dos alelos de baixa afinidade (*Ahr^d*) em AIRmax e de alta afinidade (*Ahr^{b1}*) em AIRmin, no locus *Ahr* (DE SOUZA et al., 2008).

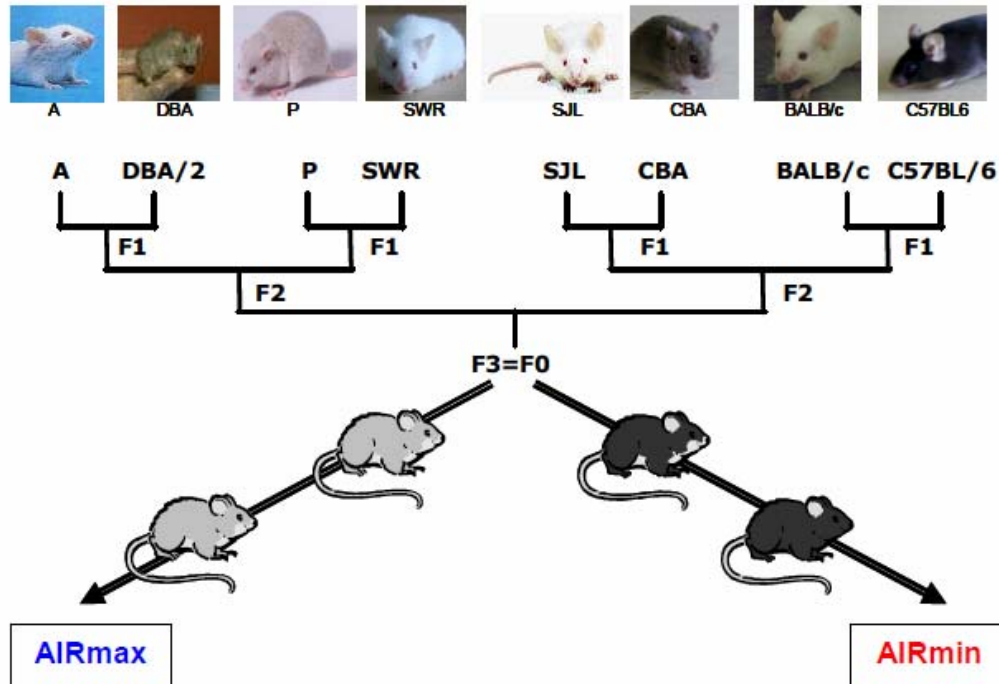
1.11 SELEÇÃO GENÉTICA DE LINHAGENS SEGUNDO A REATIVIDADE INFLAMATÓRIA AGUDA.

A regulação genética da resposta inflamatória vem sendo estudada pelo grupo de pesquisadores do Laboratório de Imunogenética do Instituto Butantan em linhagens de camundongos geneticamente selecionadas para a alta ou baixa reatividade inflamatória aguda (AIR, do inglês: Acute Inflammatory Response) a corpo estranho (IBAÑEZ et al., 1992).

Estas linhagens foram obtidas por Seleção Genética Bidirecional a partir de uma população geneticamente heterogênea (F0) constituída por cruzamentos equilibrados entre oito linhagens isogênicas A/J, BALB/cJ, C57BL/6J, CBA/J, DBA/2J, P/J, SJL/J e SWR/J (**Figura 4**).

A partir da população F0 foram selecionados aqueles animais que apresentaram alta ou baixa reatividade inflamatória aguda (AIR), segundo o número de leucócitos infiltrados e o teor de proteínas extravasadas em resposta à injeção subcutânea de Biogel, agente flogístico quimicamente inerte e não imunogênico (**Figura 4**) (STIFFEL et al, 1990).

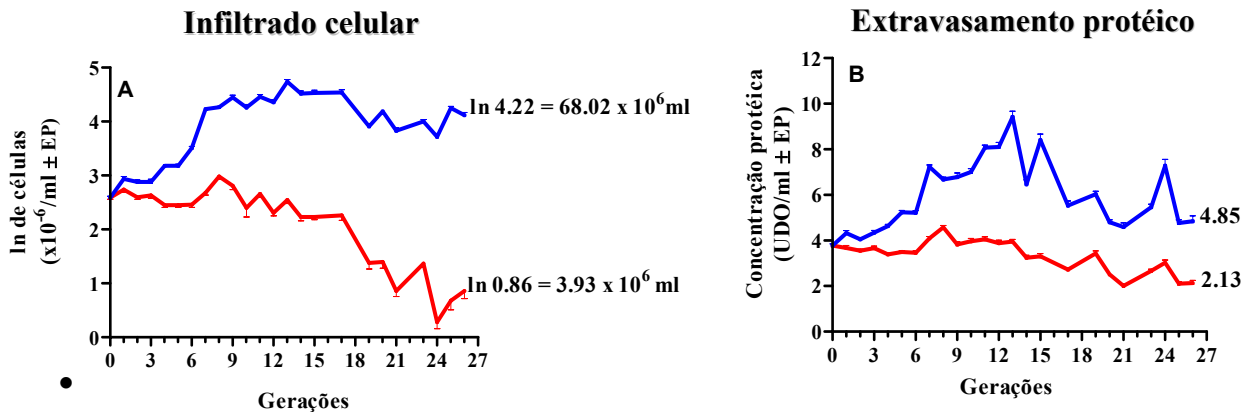
Figura 4 - Processo de geração das linhagens AIRmax e AIRmin.



FONTE: Katz (2012).

Os acasalamentos dos animais escolhidos nos extremos de resposta máxima (AIRmax) ou mínima (AIRmin) foram repetidos em gerações consecutivas, até ser atingido o limite máximo de separação entre as duas linhagens ao redor da vigésima geração destes acasalamentos seletivos. Observou-se a conservação dos fenótipos extremos nas gerações posteriores, indicando que os genes relacionados aos caracteres selecionadores fixaram-se em homozigose em cada linhagem, mantendo-se, entretanto um fundo genético heterogêneo (**Figura 5**) (IBAÑEZ et al., 1992, BIOZZI et al., 1998).

Figura 5 - Gráfico da divergência entre AIRmax (■) e AIRmin (■) no número médio de leucócitos infiltrantes e extravasamento protéico no sítio de injeção do Biogel



FONTE: Modificado de Biozzi et al. (1998).

Durante o processo seletivo houve aumento progressivo da diferença fenotípica entre as duas linhagens AIR indicando que este caráter é quantitativamente regulado pela interação aditiva de vários genes que segregam independentemente e cujos alelos de efeito de máxima ou mínima resposta inflamatória aguda foram acumulados progressivamente durante o processo de seleção. Por métodos de genética clássica foi estimada a participação de 9 a 12 loci gênicos independentes, comumente denominados de QTL (*Quantitative Trait Loci*) (IBAÑEZ et al, 1992; BIOZZI et al., 1998).

A diferença entre as duas linhagens no número médio de leucócitos migrantes ao sítio de injeção do Biogel é ao redor de 20 vezes a favor da linhagem AIRmax, sendo os leucócitos polimorfonucleares (PMN) as células predominantes no exsudato. Esta diferença é um fenômeno geral que afeta todos os tecidos vascularizados em resposta a outros agentes flogísticos, tais como carragenina, zimosan e bactérias vivas ou inativas, e veneno de *Bothrops jararaca* (IBAÑEZ et al., 1992; VASQUEZ-BRAVO, 1996 tese; ARAUJO et al., 1998; CARNEIRO, A. et al., 2002). Este maior número de neutrófilos encontrado no exsudato dos camundongos AIRmax é decorrente de alguns fatores como maior produção de substâncias quimiotáticas pelas células residentes ou infiltrantes para atrair neutrófilos, como C3a, C5a e proteína inflamatória do macrófago 2 (MIP-2), após tratamento com Biogel. Outro fator importante é a maior capacidade da medula óssea dos animais AIRmax em produzir neutrófilos maduros devido, em parte, à maior expressão de receptores hematopoiéticos em relação aos camundongos AIRmin. Estas características fenotípicas divergentes entre as linhagens AIRmax e AIRmin podem ser decorrentes do fato de que as linhagens AIR apresentam fixação diferencial de alelos dos genes da subunidade alfa do receptor de IL-3 (IL-3-r α). Enquanto a linhagem

AIRmax apresenta fixação preferencial do alelo normal do IL-3R α , que juntamente com o receptor β determina a resposta normal destes camundongos à IL-3, os animais AIRmin possuem alta frequência do alelo que codifica a forma protéica anormal que é associada à baixa resposta dos camundongos A/J. Além disso, a linhagem AIRmax tem maior resistência a apoptose espontânea das células do exsudato do que os animais AIRmin (RIBEIRO et al., 2003).

Conforme apontado anteriormente, estes camundongos por se diferenciarem quanto à capacidade de desenvolver tumores quimicamente induzidos por xenobióticos, incluindo DMBA, constituem, portanto, um modelo apropriado e original para o estudo da influência dos caracteres inflamatórios selecionados na carcinogênese causada pelos HPAs.

Devido à grande diferença de susceptibilidade das linhagens em desenvolver tumores malignos sobre ação desses hidrocarbonetos aromáticos, em nosso trabalho de mestrado estudamos os efeitos do tratamento com DMBA na medula óssea destes animais. Verificamos que apenas os camundongos AIRmin, que exibem *Ahr* de alta afinidade, tiveram depleção na celularidade da medula óssea nas populações mielóide e linfóide. Esta hematotoxicidade refletiu-se na perda da capacidade proliferativa de precursores quando submetidos, *in vitro*, aos estímulos proliferativos de GM-CSF (do inglês: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) (KATZ, 2007).

Além de causar depleção nas células da medula óssea, o tratamento dos camundongos com DMBA também afetou o baço diminuindo a celularidade e a capacidade proliferativa de linfócitos B e T em resposta aos mitógenos LPS e ConA, respectivamente. Os efeitos supressores de proliferação de células B foram observados unicamente na linhagem AIRmin. Por outro lado, o DMBA não discriminou as duas linhagens quanto aos efeitos sobre as células T, as quais sofreram diminuição de proliferação em níveis equivalentes nas duas linhagens (KATZ, 2007).

O nível de expressão de RNAm do *Ahr* e da enzima responsável pela metabolização do DMBA, a *Cyp1a1*, aumentou nas células da medula óssea dos camundongos AIRmin, às 12 horas após o tratamento, enquanto que nos animais AIRmax houve supressão destes genes. O conjunto dos nossos resultados indica que a diferença interlinhagens, de sensibilidade ao DMBA, pode estar relacionada com a diferente capacidade em metabolizar esse xenobiótico (KATZ, 2007).

Portanto, no presente estudo avaliamos a toxicidade do DMBA na medula óssea comparativamente nos animais AIRmax e AIRmin, verificando os efeitos citotóxico e

genotóxico nas células da medula óssea e a repercussão desses efeitos nas respostas imunológicas.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

- ❖ Os camundongos AIRmin são mais sensíveis aos efeitos supressores do DMBA do que os animais AIRmax no que concerne à diminuição da celularidade da medula óssea. Essa diminuição na celularidade da medula óssea ocorre por morte de células em apoptose tardia ou necróticas.
- ❖ A supressão da celularidade em AIRmin tratados com DMBA ocorre principalmente na população de neutrófilos segmentados.
- ❖ As células mielóides dos animais AIRmin tratados com DMBA, quando estimuladas *in vitro*, apresentam proliferação e diferenciação diminuídas.
- ❖ Após 1 e 50 dias do tratamento com DMBA aumenta a porcentagem das HSCs da medula óssea e causa displasia em grande parte dessas células apenas nos AIRmin.
- ❖ O tratamento com DMBA nos AIRmin diminui a porcentagem de células Lin negativas nas fases S e G2/M do ciclo celular.
- ❖ Os camundongos AIRmin tem aumento de expressão de p53 e p27 nas células totais da medula óssea e aumento da expressão de p53 e p21 nas células Lin negativas após 24 horas do tratamento com DMBA, enquanto os AIRmax tem uma diminuição na expressão dessas proteínas.
- ❖ O comprometimento da medula óssea nos animais AIRmin tratados com DMBA afetou substancialmente o aporte de células em resposta ao Biogel e a produção de anticorpo anti-HGG.
- ❖ Ambas as linhagens AIRmax e AIRmin sofrem efeitos genotóxicos do DMBA, porém os camundongos AIRmax têm capacidade de reparar o dano no DNA mais precocemente que os AIRmin.
- ❖ O tratamento com DMBA causa aumento da expressão de *parp-1* apenas nos AIRmax.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, B. D.; PERDEW, G. H.; BUCKALEW, A. R.; BIRNBAUM, L. S. Interactive regulation of Ah and glucocorticoid receptors in the synergistic induction of cleft palate by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and hydrocortisone. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 128, n. 1, p. 138-150, 1994.

ABDELRAHIM, M.; SMITH, R.; SAFE, S. Aryl hydrocarbon receptor gene silencing with small inhibitory RNA differentially modulates Ah-responsiveness in MCF-7 and HepG2 cancer cells. **Mol. Pharmacol.**, v. 63, n. 6, p. 1373-1381, 2003.

AGAMI, R.; BERNARDS R. Convergence of mitogenic and DNA damage signaling in the G1 phase of the cell cycle. **Cancer Lett.**, v. 177, n. 2, p. 111-118, 2002.

AGRAWAL, R. C; PANDEY S. Evaluation of anticarcinogenic and antimutagenic potential of Bauhinia variegata extract in Swiss albino mice. **Asian. Pac. J. Cancer Prev.**, v. 10, n. 5, p. 913-916, 2009.

ALLAN, L. L.; SCHLEZINGER, J. J.; SHANSAB, M.; SHERR, D. H. CYP1A1 in polycyclic aromatic hydrocarbon-induced B lymphocyte growth suppression. **Bioch. Biophys. Res. Comm.**, v. 342, p. 227-235, 2006.

AMÉ, J. C.; SPENLEHAUER, C.; DE MURCIA, G. The PARP superfamily. **Bioessays**, v. 26, n. 8, p. 882-893, 2004.

ANDRYSÍK Z.; VONDRÁČEK J.; MACHALA M.; KRČMÁR P.; SVIHÁLKOVÁ-SINDLEROVÁ L.; KRANZ A.; WEISS C.; FAUST D.; KOZUBÍK A.; DIETRICH C. The aryl hydrocarbon receptor-dependent deregulation of cell cycle control induced by polycyclic aromatic hydrocarbons in rat liver epithelial cells. **Mutat. Res.**, v. 615, n. 1-2, p. 87-97, 2006.

ARAUJO, L. M. M.; RIBEIRO, O. G; SIQUEIRA, M.; DE FRANCO, M.; STAROBINAS, N.; MASSA, S.; CABRERA, W. H. K.; MOUTON, D.; SEMAN, M; IBAÑEZ, O. M. Innate resistance to infection by intracellular bacterial pathogens differs in mice selected for maximal or minimal acute inflammatory response. **Eur. J. Immunol.**, v. 28, p. 2913-2920, 1998.

BANGRAZI, C.; MOUTON, D.; NEVEU, T.; SARAN, A.; COVELLI, V.; DORIA, G; BIOZZI, G. Genetics of chemical carcinogenesis.1-Bidirectional selective breeding of susceptible and resistant lines of mice to two-stage skin carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 11, p. 1711-1719, 1990.

BARHOOVER, M. A; HALL, J. M; GREENLEE, W. F; THOMAS, R. S. Aryl hydrocarbon receptor regulates cell cycle progression in human breast cancer cells via a functional interaction with cyclin-dependent kinase 4. **Mol. Pharmacol.**, v. 77, n. 2, p. 195-201, 2010.

BARTEK, J; LUKAS, J. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. **Curr. Opin. Cell Biol.**, v. 19, n. 2, p. 238-245, 2007.

De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BAUER, P. I.; CHEN, H. J.; KENESI, E.; KENESSEY, I.; BUKI, K. G.; KIRSTEN, E.; HAKAM, A.; HWANG, J. I.; KUN, E. Molecular interactions between poly(ADP-ribose) polymerase (PARP I) and topoisomerase I (Topo I): identification of topology of binding. **FEBS Lett.**, v. 506, n. 3, p. 239-242, 2001.

BERGSTRAND H. The generation of reactive oxygen-derived species by phagocytes. **Agents Actions Suppl.**, v. 30, p. 199-211, 1990.

BIOZZI, G.; RIBEIRO, O. G.; SARAN, A.; ARAUJO, L. M.; MARIA, D. A.; DE FRANCO, M.; CABRERA, W. H.; SANT'ANNA, O. A.; MASSA, S.; COVELLI, V.; MOUTON, D.; NEVEU, T.; SIQUEIRA, M.; IBAÑEZ, O. M. Effect of genetic modification of acute inflammatory responsiveness on tumorigenesis in the mouse, **Carcinogenesis**, v. 2, n. 13, p. 337-346, 1998.

BORREGO A; PETERS L. C; JENSEN J. R.; RIBEIRO O. G.; CABRERA W. H. K.; STAROBINAS N.; SEMAN M.; IBAÑEZ O. M.; DE FRANCO M. Genetic determinants of acute inflammation regulate Salmonella infection and modulate Slc11a1 gene (formerly Nramp1) effects in selected mouse lines. **Microbes Infect.** v. 8, n. 12-13, p. 2766-2771, 2006.

BOSTROM, C. E.; GERDE, P.; HANBERG, A.; JERNSTROM, B.; JOHANSSON, C.; KYRKLUND, T.; RANNUG, A.; TORNQVIST, M.; VICTORIN, K.; WESTERHOLM, R. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. **Environ. Health. Perspect.** v. 110, p. 451-488, 2002.

BUTERS, J. T.; SAKAI, S.; RICHTER, T.; PINEAU, T.; ALEXANDER, D. L.; SAVAS, V.; DOEHMER, J.; WARD, J. M.; JEFCOATE, C. R.; GONZALEZ, F. T. Cytochrome P450 CYP1B1 determines susceptibility to 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced lymphomas. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 96, n. 5, p. 1977-1982, 1999.

CARNEIRO, A. S.; RIBEIRO, O. G.; DE FRANCO, M.; CABRERA, W. H. K.; VORRARO, F.; SIQUEIRA, M.; IBAÑEZ, O. M.; STAROBINAS, N. Local inflammatory reaction induced by *Bothrops jararaca* venom differs in mice selected for acute inflammatory response. **Toxicon.**, v 40, p. 1571-1579, 2002.

CARNEIRO, P. DOS S.; PETERS, L. C.; VORRARO, F.; BORREGO, A.; RIBEIRO, O. G.; STAROBINAS, N.; JENSEN, J. R.; CABRERA, W. H.; IBAÑEZ, O. M.; DE FRANCO, M. Gene expression profiles of bone marrow cells from mice phenotype-selected for maximal or minimal acute inflammations: searching for genes in acute inflammation modifier loci. **Immunology.** v. 128, p. 562-571, 2009.

CARVALHO L. V.; RUIZ R. C.; SCARAMUZZI K.; MARENGO E. B.; MATOS J. R.; TAMBOURGI D. V.; FANTINI M. C.; SANT'ANNA O. A. Immunological parameters related to the adjuvant effect of the ordered mesoporous silica SBA-15. **Vaccine**, v. 28, n. 50, p. 7829-7836, 2010.

CHAKRAVARTI, D.; VENUGOPAL, D.; MAILANDER, P. C.; MEZA, J. L.; HIGGINBOTHAM, S.; CAVALIERI, E. L.; ROGAN, E. G. The role of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in inducing mutations in mouse skin. **Mutat. Res.**, v. 649, n. 1-2, p. 161-178, 2008.

- CHO, Y. S.; PARK, S. Y.; SHIN, H. S.; CHAN, F. K. Physiological consequences of programmed necrosis, an alternative form of cell demise. **Mol. Cells**, v. 29, n. 4, p. 327-332, 2010.
- CHUTE, J. P. Stem cell homing. **Curr. Opin. Hematol.**, v. 13, p. 399-406, 2006.
- COLLINS, A. R.; OSCOZ, A. A.; BRUNBORG, G.; GAIVÃO, I.; GIOVANNELLI, L.; KRUSZEWSKI, M.; SMITH, C. C.; STETINA, R. The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, v. 23, n. 3, p. 143-151, 2008.
- CONDE, C. Loss of poly(ADP-ribose) polymerase-1 causes increased tumour latency in p53-deficient mice. **Embo J.**, v. 20, p. 3535-3543, 2001.
- CURRIER, N.; SOLOMON, S. E.; DEMICCO, E. G.; CHANG, D. L.; FARAGO, M.; YING, H.; DOMINGUEZ, I.; SONENSHEIN, G. E.; CARDIFF, R. D.; XIAO, Z. X.; SHERR, D. H. e SELDIN, D. C. Oncogenic signaling pathways activated in DMBA-induced mouse mammary tumors. **Toxicol. Pathol.**, v. 33, n. 6, p. 726-737, 2005.
- D'AMOURS, D.; DESNOYERS, S.; D'SILVA, I.; POIRIER, G. G. Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. **Biochem J.**, v. 342, p. 249-268, 1999.
- DANTZER, F.; NASHEUER, H. P.; VONESCH, J. L.; DE MURCIA, G.; MÉNISSIER-DE MURCIA, J. Functional association of poly(ADP-ribose) polymerase with DNA polymerase alpha-primase complex: a link between DNA strand break detection and DNA replication. **Nucleic. Acids. Res.**, v. 26, n. 8, p. 891-898, 1998.
- DAS, M.; ANSARI, K. M.; DHAWAN, A.; SHUKLA, Y.; KHANNA, S. K. Correlation of DNA damage in epidemic dropsy patients to carcinogenic potential of argemone oil and isolated sanguinarine alkaloid in mice. **Int. J. Cancer**, v. 117, n. 5, p. 709-717, 2005.
- DE FRANCO, M.; CARNEIRO, P. DOS. S.; PETERS, L. C.; VORRARO, F.; BORREGO, A.; RIBEIRO, O. G.; STAROBINAS, N.; CABRERA, W. K.; IBAÑEZ, O. M. Slc11a1 (Nramp1) alleles interact with acute inflammation loci to modulate wound-healing traits in mice. **Mamm. Genome**, v. 18, n. 4, p. 263-269, 2007.
- DE SOUZA, V. R.; CABRERA, W. K.; GALVAN, A.; RIBEIRO, O. G.; DE FRANCO, M.; VORRARO F.; STAROBINAS, N.; MASSA, S.; DRAGANI, T. A.; IBAÑEZ, O. M. Aryl hydrocarbon receptor polymorphism modulates DMBA-induced inflammation and carcinogenesis in phenotypically selected mice. **Int. J. Cancer**, v. 124, n. 6, p. 1478-1482, 2008.
- DEAN, J. H.; WARD, E. C.; MURRAY, M. J.; LAUER, L. D.; HOUSE, R. V. Mechanisms of dimethylbenzanthracene-induced immunotoxicity. **Clin. Physiol. Biochem.**, v. 3, n. 2-3, p. 98-110, 1985.
- DEAN, J. H.; WARD, E. C.; MURRAY, M. J.; LAUER, L. D.; HOUSE, R. V.; STILLMAN, W.; HAMILTON, T. A.; ADAMS, D. O. Immunosuppression following 7,12-dimethylbenz[a]anthracene exposure in B6C3F1 mice--II. Altered cell-mediated immunity and tumor resistance. **Int. J. Immunopharmacol.**, v. 8, n. 2, p.189-198, 1986.

DE MURCIA J. M.; NIEDERGANG C.; TRUCCO C.; RICOUL M.; DUTRILLAUX B.; MARK M.; OLIVER F. J.; MASSON M.; DIERICH A.; LEMEURE M.; WALZTINGER C.; CHAMBON P.; DE MURCIA G. Requirement of poly(ADP-ribose) polymerase in recovery from DNA damage in mice and in cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v 94, n. 14, p. 7303-7307, 1997.

DENISON M. S.; NAGY S. R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**; v. 43, p. 309-334, 2002.

EL-DEIRY, W. S.; TOKINO, T.; VELCULESCU, V. E.; LEVY, D. B.; PARSONS, R.; TRENT, J. M.; LIN, D.; MERCER, W. E.; KINZLER, K. W.; VOGELSTEIN, B. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. **Cell**, v. 75, n. 4, p. 817-825, 1993.

ELFERINK C. J.; GE N. L.; LEVINE A. Maximal aryl hydrocarbon receptor activity depends on an interaction with the retinoblastoma protein. **Mol. Pharmacol.** v. 59, p. 664-673, 2001.

ELIZONDO G.; FERNANDEZ-SALGUERO P.; SHEIKH M. S.; KIM G. Y.; FORNACE A. J.; LEE K. S.; GONZALEZ F. J.; Altered cell cycle control at the G(2)/M phases in aryl hydrocarbon receptor-null embryo fibroblast. **Mol. Pharmacol.**, v. 57, n. 5, p. 1056-1063, 2000.

EMBER, I.; KISS, I.; PUSZTAI, Z. Effect of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene on onco/suppressor gene action in vivo: a short-term experiment. **Anticancer Res.**, v. 18, n. 1A, p. 445-447, 1998.

FULDA, S.; GORMAN, A. M.; HORI, O.; SAMALI, A. Cellular stress responses: cell survival and cell death. **Int. J. Cell. Biol.**, v. 74, p. 2010-2140, 2010.

GALVÁN, N.; JASKULA-SZTUL, R.; MACWILLIAMS, P. S.; CZUPRYNSKI, C. J.; JEFCOATE, C. R. Bone marrow cytotoxicity of benzo(a)pyrene is dependent on CYP1B1 but is diminished by Ah receptor-mediated induction of CYP1A1 in liver. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 193, p. 84-96, 2003.

GALVAN N.; PAGE T. J.; CZUPRYNSKI C. J.; JEFCOATE C. R. Benzo(a)pyrene and 7,12-dimethylbenz(a)anthracene differentially affect bone marrow cells of the lymphoid and myeloid lineages. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 213, n. 2, p. 105-116, 2006.

GAO J.; LAUER F. T.; DUNAWAY S.; BURCHIEL S. W. Cytochrome P450 1B1 is required for 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene (DMBA) induced spleen cell immunotoxicity. **Toxicol. Sci.**, v. 86, n. 1, p. 68-74, 2005.

GAO, J.; MITCHELL, L. A.; LAUER, F. T.; BURCHIEL, S. W. p53 and ATM/ATR regulate 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced immunosuppression. **Mol. Pharmacol.** v. 73, n. 1, p. 137-146, 2008.

GARCIA, O.; ROMERO, I.; GONZÁLEZ, J.E.; MANDINA, T. Measurements of DNA damage on silver stained comets using free Internet software. **Mutat. Res.**, v. 627, n. 2, p. 186-190, 2007.

GARNER, E.; RAJ, K. Protective mechanisms of p53-p21-pRb proteins against DNA damage-induced cell death. **Cell Cycle**, v. 7, n. 3, p. 277-282, 2008.

GASIEWICZ T. A.; RUCCI G.; Alpha-naphthoflavone acts as an antagonist of 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by forming an inactive complex with the Ah receptor. **Mol. Pharmacol.**, v. 40, n. 5, p. 607-612, 1991.

GESKE F. J.; LIEBERMAN R.; STRANGE R.; GERSCHENSON L. E. Early stages of p53-induced apoptosis are reversible. **Cell Death Differ.**, v. 8, n. 2, p. 182-191, 2001.

GIULIETTI A.; OVERBERGH L.; VALCKX D.; DECALLONNE B.; BOUILLON R.; MATHIEU C. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 386-401, 2001.

GOLDSTEIN, B. D. Benzene as a cause of lymphoproliferative disorders. **Chem. Biol. Interact.**, v. 184, n. 1-2, p. 147-150, 2010.

GUICCIARDI, M.E.; GORES, G.J. Life and death by death receptors. **FASEB J.** v.23, n.6, p.1625-37, 2009.

HAAN, G.; NIJHOF, W.; VAN, G. Z. Mouse Strain-Dependent Changes in Frequency and Proliferation of Hematopoietic Stem Cells During Aging: Correlation Between Lifespan and Cycling Activity. **Blood**, v. 89, p. 1543–1550, 1997.

HAHN, M. E.; KARCHNER, S. I.; SHAPIRO, M. A.; PERERA, S. A. Molecular evolution of two vertebrate aryl hydrocarbon (dioxin) receptors (AHR1 and AHR2) and the PAS family. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v. 94, n. 25, p. 3743-3781, 1997.

HANAHAHAN D.; WEINBERG R. A. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57-70, 2000.

HANKINSON, O. The aryl hydrocarbon receptor complex. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 35, p. 307-340, 1995.

HARPER, J. W.; ELLEDGE, S. J. The DNA damage response: ten years after. **Mol. Cell.**, v. 28, n. 5, p. 739-745, 2007.

HASEL, K. W.; SUTCLIFFE, J. G. Nucleotide sequence of a cDNA coding for mouse cyclophilin. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 13, 1990.

HASSA, P. O.; HAENNI, S. S.; BUERKI, C.; MEIER, N. I.; LANE, W. S.; OWEN, H.; GERSBACH, M.; IMHOF, R.; HOTTIGER, M. O. Acetylation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 by p300/CREB-binding protein regulates coactivation of NF-kappaB-dependent transcription. **J. Biol. Chem.**, v. 280, n. 49, p. 40450-40464, 2005.

HAYASHIBARA T.; YAMADA Y.; MORI N.; HARASAWA H.; SUGAHARA K.; MIYANISHI T.; KAMIHIRA S.; TOMONAGA M. Possible involvement of aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult T-cell leukemia (ATL) leukemogenesis: constitutive activation of AhR in ATL. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 300, n. 1, p. 128-134, 2003.

HEIDEL, S. M.; HOLSTON, K.; BUTERS, J. T.; GONZALEZ, F.J.; JEFCOATE, C. R.; CZUPRYNSKI, C. J. Bone marrow stromal cell cytochrome P4501B1 is required for pre-B cell apoptosis induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. **Mol. Pharmacol.**, v. 56, n. 6, p. 1317-1323, 1999.

HEIDEL, S. M.; MACWILLIANS, P. S.; BAIRD, W. M.; DASHWOOD, W. M.; BUTERS, J. T. M.; GONZALEZ, F. J.; LARSEN, M. C.; CZUPRYNSKI, C. J.; JEFCOATE, C. R. Cytochrome P4501B1 mediates induction of bone marrow cytotoxicity and preleukemia cells in mice treated with 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene. **Cancer Research**, v. 60, p. 3454-3460, 2000.

HELPERICH, W. G.; DENISON, M. S. Ultraviolet photoproducts of tryptophan can act as dioxin agonists. **Mol. Pharmacol.**, v. 40, n. 5, p. 674-678, 1991.

HIRSCH, T.; SUSIN, S.A.; MARZO, I.; MARCHETTI, P.; ZAMZAMI N.; KROEMER, G. Mitochondrial permeability transition in apoptosis and necrosis. **Cell Biol. Toxicol.**, v. 14, n. 2, p. 141-145, 1998.

HORTON, T. M; JENKINS, G.; PATI, D.; ZHANG, L.; DOLAN, M.E.; RIBES-ZAMORA A.; BERTUCH, A. A.; BLANEY, S. M.; DELANEY, S. L.; HEGDE, M.; BERG, S. L. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor ABT-888 potentiates the cytotoxic activity of temozolomide in leukemia cells: influence of mismatch repair status and O6-methylguanine-DNA methyltransferase activity. **Mol. Cancer Ther.**, v. 8, n. 8, p. 2232-2242, 2009.

HOUTGRAAF, J. H.; VERSMISSEN, J.; VAN DER GIESSEN, W. J. A concise review of DNA damage checkpoints and repair in mammalian cells. **Cardiovasc. Revasc. Med.**, v. 7, n. 3, p. 165-172, 2006.

HSUE S. S.; WANG W. C.; CHEN Y.; LIN L. M. Expression of inhibitors of apoptosis family protein in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal-pouch squamous-cell carcinogenesis is associated with mutant p53 accumulation and epigenetic changes. **Int. J. Exp. Pathol.**, v. 89, n. 5, p. 309-320, 2008.

HUANG G.; ELFERINK C. Multiple Mechanisms Are Involved in Ah Receptor-Mediated Cell Cycle Arrest. **Mol. Pharmacol.**, v. 67: p. 88-96, 2005

IBAÑEZ, O. M.; STIFFEL, C.; RIBEIRO, O. G.; CABRERA, H. K.; MASSA, S.; DE FRANCO, M.; SANT'ANNA, O. A.; DECREUSEFOND, C.; MOUTON, D. SIQUEIRA, M.; BIOZZI, G. Genetics of nonspecific immunity: I. Bidirectional selective breeding of lines of mice endowed with maximal or minimal inflammatory responsiveness. **Eur. J. Immunol.**, v. 22, p. 2555-2563, 1992.

IBAÑEZ O. M.; MOUTON D.; RIBEIRO O. G.; BOUTHILLIER Y.; DE FRANCO M.; CABRERA W. H.; SIQUEIRA M.; BIOZZI G. Low antibody responsiveness is found to be associated with resistance to chemical skin tumorigenesis in several lines of Biozzi mice. **Cancer Lett.**, v. 136, n. 2, p153-158, 1999.

ITO, M.; ANAN, K.; MISAWA, M.; KAI, S; HARA, H. In vitro differentiation of murine Sca-1+Lin- cells into myeloid, B cell and T cell lineages. **Stem Cells**. v. 14, n. 4, p. 412-418, 1996.

JACK, T.; Z.; SCOTT W. L. Tumor suppressive functions of p53. **Cold Spring Harb. Perspect Biol.**, p 1-12, 2009.

JACKSON, S. P.; BARTEK, J. The DNA-damage response in human biology and disease. **Nature**, v. 461, n. 726, p. 1071-1078, 2009.

JAMRA, M.; LORENZI, T. F. Sistema hematopoiético. In: PORTO, C. C. **Semiologia Médica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 763-787, 1997.

JANG J. Y.; SHIN S.; CHOI B. I.; PARK D.; JEON J. H.; HWANG S. Y.; KIM J. C.; KIM Y. B.; NAHM S. Antiteratogenic effects of alpha-naphthoflavone on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) exposed mice in utero. **Reprod. Toxicol.**, v. 24, n. 3-4, p. 303-309, 2007.

JEGGO, P. A.; LÖBRICH, M. Contribution of DNA repair and cell cycle checkpoint arrest to the maintenance of genomic stability. **DNA Repair.**, v. 5, n. 9-10, p. 1192-1198, 2006.

JIN D. Q.; JUNG J. W.; LEE Y. S.; KIM J. A. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin inhibits cell proliferation through arylhydrocarbon receptor-mediated G1 arrest in SK-N-SH human neuronal cells. **Neurosci. Lett.**, v. 363, n. 1, p. 69-72, 2004.

KASTAN, M. B.; BARTEK, J. Cell-cycle checkpoints and cancer. **Nature**, v. 432, p. 316-323, 2004.

KATZ, I.S.S. **Hematotoxicidade por xenobióticos do tipo hidrocarbonetos aromáticos em camundongos AIRmax e AIRmin.** 2007. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

KAUFMANN, S. H.; DESNOYERS, S.; OTTAVIANO, Y.; DAVIDSON, N.E.; POIRIER, G. G. Specific proteolytic cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: an early marker of chemotherapy-induced apoptosis. **Cancer Res.**, v. 53, n. 17, p. 3976-3985, 1993.

KAWABATA, T. T.; WHITE, K. L. JR. Suppression of the vitro humoral immune response of mouse splenocytes by benzo(a)pyrene metabolites and inhibition of benzo(a)pyrene-induced immunosuppression by alpha-naphthoflavone. **Cancer Res.**, v. 47, n. 9, p. 2317-2322, 1987.

KAWASAKI, Y.; HIRABAYASHI, Y.; KANEKO, T.; KANNO, J.; KODAMA, Y.; MATSUSHIMA, Y.; OGAWA, Y.; SAITOH, M.; SEKITA, K.; UCHIDA, O.; UMEMURA, T.; YOON, B. I.; INOUE, T. Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53-deficient C57BL/6 and C3H/He mice. **Toxicol. Sci.**, v. 110, n. 2, p. 293-306, 2009.

KERR, J. F.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **Br. J. Cancer**, v. 26, n. 4, p. 239-257, 1972.

KHALADE, A.; JAAKKOLA, M. S.; PUKKALA, E.; JAAKKOLA, J. J. Exposure to benzene at work and the risk of leukemia: a systematic review and meta-analysis. **Environ. Health.**, v. 28; p. 9-31, 2010.

KIM, D. W.; GAZOURIAN, L.; QUADRI, S.A.; ROMIEU-MOUREZ, R.; SHERR, D. H.; SONENSHEIN, G. E. The RelA NF-kappaB subunit and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) cooperate to transactivate the c-myc promoter in mammary cells. **Oncogene**, v. 19, p. 5498–5506, 2000.

KNAAPEN, A. M.; CURFS, D. M.; PACHEN, D. M.; GOTTSCHALK, R. W.; DE WINTHER, M. P.; DAEMEN, M. J.; VAN SCHOOTEN, F. J. The environmental carcinogen benzo[a]pyrene induces expression of monocyte-chemoattractant protein-1 in vascular tissue: a possible role in atherogenesis. **Mutat. Res.**, v. 621, n. 1-2, p. 31-41 2007.

KOLLURI S. K.; WEISS C.; KOFF A.; GOTTLICHER M. P27 (Kip1) induction and inhibition of proliferation by the intracellular Ah receptor in developing thymus and hepatoma cells. **Genes Dev.**, v. 13, n. 13, p. 1742-1753, 1999.

KUSHNAREVA, Y.; NEWMAYER, D. D. Bioenergetics and cell death. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1201, p. 50-57, 2010.

LADICS, G. S.; KAWABATA T. T.; WHITE, K. L. JR. Suppression of the in vitro humoral immune response of mouse splenocytes by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene metabolites and inhibition of immunosuppression by alpha-naphthoflavone. **Toxicol. Appl. Pharmacol**, v. 110, n. 1, p. 31-44, 1991.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the bacteriophage t 4. **Nature**, v. 277, p. 680-685, 1970

LAI, Z. W.; PINEAU, T.; ESSES, C. Identificatin of dioxin-responsive elements (DREs) in the 5' regions of putative dioxin-inducible genes. **Chem. Biol. Interact.**, v. 200, n. 2, p. 97-112, 1996.

LEE J. A.; HWANG J. A.; SUNGA H. N.; JEON C. H.; GILL B. C.; YOUN H. J.; PARK J. H. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin modulates functional differentiation of mouse bone marrow-derived dendritic cells Downregulation of RelB by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **Toxicol. Lett.**, v. 173, p. 31–40, 2007.

LEPPARD, J. B.; DONG, Z.; MACKEY, Z. B.; TOMKINSON, A. E. Physical and functional interaction between DNA ligase IIIalpha and poly(ADP-Ribose) polymerase 1 in DNA single-strand break repair. **Mol. Cell Biol.**, v. 23, n. 16, p. 5919-5927, 2003.

LÉVESQUE, J. P.; HENDY, J.; WINKLER, I. G.; TAKAMATSU, Y.; SIMMONS, P. J. Granulocyte colony-stimulating factor induces the release in the bone marrow of proteases that cleave c-KIT receptor (CD117) from the surface of hematopoietic progenitor cells. **Exp. Hematol.**, v. 31, n. 2, p. 109-117, 2003.

LIVAK, K. L.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{-2DDCT}. **Method**, v. 25, p. 402–408, 2001.

LOTEM, J.; SACHS, L.. Control of apoptosis in hematopoiesis and leukemia by cytokines, tumor suppressor and oncogenes. **Leukemia**. v. 10, n. 6, p. 925-931, 1996.

LUSTER, M. I.; ROSENTHAL, G. J. Chemical agents and the immune response. **Environ. Health Perspect.**, v. 100, p. 219-226, 1993.

MARCUS, R. S.; HOLSAPPLE, M. P.; KAMINSKI, N. E. Lipopolysaccharide activation of murine splenocytes and splenic B cells increased the expression of aryl hydrocarbon receptor and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 287, n. 3, p. 1113-1118, 1998.

MARIA, D. A.; MANENTI, G.; GALBIATI, F.; RIBEIRO, O. G.; CABRERA, W. H. K.; BARRERA, R. G.; PETTINICHIO, A.; DE FRANCO, M.; STAROBINAS, N.; SIQUEIRA, M.; DRAGANI, T.; IBAÑEZ, O. M.; Pulmonary adenoma susceptibility 1 (Pas1) locus affects inflammation response. **Oncogene**, v. 22, p. 426-432, 2003

MARIA, D.A.; RIBEIRO, O. G., PIZZOCARO, K.; DE FRANCO, M., CABRERA, W. K., STAROBINAS, N.; GALLOIS, V.; SIQUEIRA, M.; SEMAN, M.; IBAÑEZ, O. M. Resistance to melanoma metastases in mice selected for high acute inflammatory response. **Carcinogenesis**, v. 22, p. 337- 342, 2001.

MARLOWE, J. L.; PUGA, A. Aryl hydrocarbon receptor, cell cycle regulation, toxicity, and tumorigenesis. **J. Cell Biochem.**, v. 96, n. 6, p. 1174-1184, 2005.

MARNETT, L. J; PLASTARAS, J. P. Endogenous DNA damage and mutation. **Trends Genet.**, v. 17, n. 4, p. 214-221, 2001.

MARTÍN-CABALLERO, J.; FLORES, J. M.; GARCÍA-PALENCIA, P.; SERRANO, M. Tumor susceptibility of p21(Waf1/Cip1)-deficient mice. **Cancer Res.**, v. 61, n. 16, p. 6234-6238, 2001.

MARTIN-OLIVA, D.; AGUILAR-QUESADA, R.; O'VALLE, F.; MUÑOZ-GÁMEZ, J. A.; MARTÍNEZ-ROMERO, R.; GARCÍA DEL MORAL, R.; RUIZ DE ALMODÓVAR, J. M.; VILLUENDAS, R.; PIRIS, M. A.; OLIVER, F. J. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase modulates tumor-related gene expression, including hypoxia-inducible factor-1 activation, during skin carcinogenesis. **Cancer Res.**, v. 66, n.11, 5744-5756, 2006.

MASUTANI, M.; NAKAGAMA, H.; SUGIMURA T. Poly(ADP-ribosyl)ation in relation to cancer and autoimmune disease. **Cell Mol. Life Sci.**, v. 62, n. 7-8, p. 769-783, 2005.

MATSUOKA, A.; MATSUURA, K.; SAKAMOTO, H.; HAYASHI, M.; SOFUNI, T. Spindle disturbances induced by benzo[a]pyrene and 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene in a Chinese hamster cell line (V79-MZ) and the stability of the numerical chromosome aberrations that follow. **Mutat. Res.** v. 419, n. 1-3, p. 1-12, 1998.

MERCHANT M.; ARELLANO L.; SAFE S. The mechanism of action of a-naphthoflavone as an inhibitor of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced CYP1A1 gene expression. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 281, :84-89, 1990.

METCALF D.; JOHNSON G. R. Production by spleen and lymph node cells of conditioned medium with erythroid and other hemopoietic colony-stimulating activity. **J. Cell Physiol.**, v. 96, n. 1, p. 31-42, 1978.

MEYER-FICCA, M. L; MEYER, R. G; JACOBSON, E. L; JACOBSON, M. K. Poly(ADP-ribose) polymerases: managing genome stability. **Int J Biochem Cell Biol.**, v. 37, n. 5, p. 920-926, 2005.

MORGAN D. L.; MAHLER J. F.; WILSON R. E.; MOORMAN M. P.; PRICE H. C. JR.; PATRICK K. R.; RICHARDS J. H.; O'CONNOR R. W. Effects of various pretreatments on the hepatotoxicity of inhaled styrene in the B6C3F1 mouse. **Xenobiotica.**, v. 27, n. 4, p. 401-411, 1997.

MÜSCHEN, M.; RAJEWSKY, K.; KRÖNKE, M.; KÜPPERS, R. The origin of CD95-gene mutations in B-cell lymphoma. **Trends Immunol.**, v. 23, n. 2, p. 75-80, 2002.

MURANTE, F. G; GASIEWICZ, T. A. Hemopoietic progenitor cells are sensitive targets of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J mice. **Toxicol. Sci.**, v. 54, n. 2, p. 374-383, 2000.

NEBERT, D. W.; PETERSEN, D. D.; FORNACE, A. J. Cellular responses to oxidative stress: the [Ah] gene battery as a paradigm. **Env. Health Persp.**, v. 88, p. 13-25, 1990.

NEBERT, D. W; BROWN, D. D; TOWNE, D. W; EISEN, H. J. Association of fertility, fitness and longevity with the murine Ah locus among (C57BL/6N) (C3H/HeN) recombinant inbred strains. **Biol. Reprod.**, v. 30, p. 363-373, 1984.

NIMER, S. D. MDS: a stem cell disorder--but what exactly is wrong with the primitive hematopoietic cells in this disease? **Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program**, p. 43-51, 2008.

OLIVER F. J.; DE LA RUBIA G.; ROLLI V.; RUIZ-RUIZ M. C.; DE MURCIA G.; MURCIA J. M. Importance of poly(ADP-ribose) polymerase and its cleavage in apoptosis. Lesson from an uncleavable mutant. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 50, p. :33533-33539, 1998.

PAGE, T. J.; MACWILLIAMS, P. S.; SURESH, M.; JEFCOATE, C. R.; CZUPRYNSKI, C. J. 7-12 Dimethylbenz[a]anthracene-induced bone marrow hypocellularity is dependent on signaling through both the TNFR and PKR. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 198, n. 1, p. 21-28, 2004.

PAGE, T. J.; O'BRIEN, S.; HOLSTON, K.; MACWILLIAMS, P. S.; JEFCOATE, C. R.; CZUPRYNSKI, C. J. 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene-induced bone marrow toxicity is p53-dependent. **Toxicol. Sci.**, v. 74, n. 1, p. 85-92, 2002.

PAGE, T. J.; O'BRIEN, S.; JEFCOATE, C. R.; CZUPRYNSKI, C. J. 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene induces apoptosis in murine pre-B cells through a caspase-8-dependent pathway. **Mol. Pharmacol.**, v. 62, n. 2, p. 313-319, 2002.

PAGES, V.; FUCHS, R. P. How DNA lesions are turned into mutations within cells? **Oncogene**, v. 21, p. 8957-8966, 2002.

PARENT-MASSIN D. Relevance of clonogenic assays in hematotoxicology. **Cell. Biol. Toxicol.**, v. 17, n. 2, p. :87-94, 2001.

PARK S. Y.; PHARK S.; LEE M.; LIM J. Y.; SUL D. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of placental extracts in benzo[a]pyrene-exposed rats. **Placenta**, 2010. In press.

PASSEGUE, E.; JAMIESON, C. H. M.; AILLES, L. E.; WEISSMAN, I. L. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 100, p. 11842-11849, 2003.

PERDEW, G. H.; BABBS, C. F. Production of Ah receptor ligands in rat fecal suspensions containing tryptophan or indole-3-carbinol. **Nutr. Cancer.**, v. 16, n. 3-4, p. 209-218, 1991.

PETERS, J. M.; WILEY, L. M. Evidence that murine preimplantation embryos express aryl hydrocarbon receptor. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 134, n. 2, p. 214-221, 1995.

PETERS L. C.; JENSEN J. R.; BORREGO A.; CABRERA W. H.; BAKER N.; STAROBINAS N.; RIBEIRO O. G.; IBAÑEZ O. M.; DE FRANCO M. Slc11a1 (formerly NRAMP1) gene modulates both acute inflammatory reactions and pristane-induced arthritis in mice. **Genes Immun.**, v. 8, n. 1, p. 51-56, 2007.

PETERSON, H. P.; FELDGES, A.; VON WANGENHEIM, K. H.; FEINENDEGEN, L. E. Preleukemic proliferative changes in murine bone marrow after single and multiple 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-applications. **Leuk. Res.**, v. 17, n. 1, p. 43-49, 2003.

PIEPER, A. A.; VERMA, A.; ZHANG, J.; SNYDER, S. H. Poly(ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 20, p 171-181, 1999.

PUGA A.; BARNES S. J.; DALTON T. P.; CHANG C.; KNUDSEN E. S.; MAIER M. A.. Aromatic hydrocarbon receptor interaction with the retinoblastoma protein potentiates repression of E2F-dependent transcription and cell cycle arrest. **J. Biol. Chem.** v. 275, n. 4, p. 2943-2950, 2000.

QUINTANA, F. J; BASSO, A. S.; IGLESIAS, A. H.; KORN, T; FAREZ, M. F; BETTELLI, E.; CACCAMO, M.; OUKKA, M.; WEINER, H. L. Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. **Nature**, v. 453, n.7191, p. 65-71, 2008.

RIBEIRO FILHO, O. G. **Controle genético da inflamação**, 1994. 101 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Imunologia) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1994.

RIBEIRO, O. G.; MARIA, D. A.; ADRIOUCH, S.; PECHBERTY, S.; CABRERA, W. H.; MORISSET, J.; IBAÑEZ, O. M.; SEMAN, M. Convergent alteration of granulopoiesis, chemotactic activity, and neutrophil apoptosis during mouse selection for high acute inflammatory response. **J. Leukoc. Biol.**, v. 74, n. 4, p. 497-506, 2003.

RIBEIRO, O. G.; CABRERA, W. H.; MARIA, D. A.; DE FRANCO, M.; MASSA, S.; DI PACE, R. F.; DE SOUZA, V. R. C.; STAROBINAS, N.; SEMEN, M.; IBAÑEZ, O. M. Genetic selection for high acute inflammatory response confers resistance to lung carcinogenesis in the mouse. **Exp. Lung Res.**, v. 31, p. 105-116, 2005.

ROOS, W. P.; KAINA, B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. **Trends Mol. Med.** v. 12, n. 9, p. 440-450, 2006.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços do sangue: noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudos de diversos fatores. **Mem. Isnt. Butantan**, v. 20, p. 315-28, 1947.

RUNDLE, A.; TANG, D.; HIBSHOOSH, H.; ESTABROOK, A.; SCHNABEL, F.; CAO, W.; GRUMET, S.; PERERA, F. P. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. **Carcinogenesis**, v. 21, p. 1281-1289, 2000.

SANCAR, A.; LINDSEY-BOLTZ, L.A.; UNSAL-KAÇMAZ, K.; LINN, S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 73, p. 39-85, 2004.

SCHALDACH, C. M.; RIBY, J.; BJELDANES, L. F. Lipoxin A(4): A new class of ligand for the Ah receptor. **Biochemistry**, v. 38, n. 23, p. 7594-7600, 1999.

SCHMIDT, J. V.; CARVER, L. A.; BRADFIELD, C. A. Molecular characterization of the murine Ahr gene. Organization, promoter analysis, and chromosomal assignment. **J. Biol. Chem.**, v. 268, p. 22203-22209, 1993.

SEIDEL, S. D.; WINTERS, G. M.; ROGERS, W. J.; ZICCARDI, M. H.; LI, V.; KESER, B.; DENISON MS. Activation of the Ah receptor signaling pathway by prostaglandins. **J. Biochem. Mol. Toxicol.**, v. 15, n. 4, p. 187-196, 2001.

SHALL, S.; DE MURCIA, G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? **Mutat. Res.**, v. 460, n. 1, p. 1-15, 2000.

SHIROMIZU K.; MATTISON D. R. Murine oocyte destruction following intraovarian treatment with 3-methylcholanthrene or 7,12-dimethylbenz(a)anthracene: protection by alpha-naphthoflavone. **Teratog. Carcinog. Mutagen.**, v. 5, n. 6, p. 463-472, 1985.

SIMBULAN-ROSENTHAL, C. M.; ROSENTHAL, D. S.; LYER, S.; BOULARES, H.; SMULSON, M. E. Involvement of PARP and poly(ADP-ribosyl) ation in the early stages of apoptosis and DNA replication. **Mol. Cell Biochem.**, v. 193, p. 137-148, 1999.

SINGH, K.; CASADO, F. L.; OPANASHUK, L. A.; GASIEWICZ, T. A. The aryl hydrocarbon receptor has a normal function in the regulation of hematopoietic and other stem/progenitor cell populations. **Biochem. Pharmacol.**, v. 77, n. 4, p. 577-587, 2009a.

SINGH, K. P.; WYMAN, A.; CASADO, F. L.; GARRETT, R. W.; GASIEWICZ, T. A. Treatment of mice with the Ah receptor agonist and human carcinogen dioxin results in altered numbers and function of hematopoietic stem cells. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 1, p. 11-9, 2009b.

SINGH, N. P.; MACCOY, M T.; TICE, R. R.; SCHNEIDER, E. L. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cell. **Exp. Cell Res.**, v. 175, p. 184-191, 1988.

STEVENS, E. A.; MEZRICH, J. D.; BRADFIELD, C. A. The aryl hydrocarbon receptor: a perspective on potential roles in the immune system. **Immunology**, v. 127, n. 3, p. :299-311, 2009.

STIFFEL, C.; IBÁÑEZ, O. M.; RIBEIRO, O. G.; DECREUSEFOND, C; MOPUTON, D.; SIQUEIRA, M.; BIOZZI, G. Genetics of acute inflammation: Inflammatory reactions in inbred lines of mice and their interline crosses. **Exp. Clin. Immunogenet.**, v. 7, p. 221-233, 1990.

SURATT, B. T.; YOUNG, S. K.; LIEBER, J.; NICK, J. A.; HENSON, P. M.; WORTHEN G. S. Neutrophil maturation and activation determine anatomic site of clearance from circulation. **Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.**, v. 281, p. 913-921, 2001.

SZABÓ, C.; VIRÁG, L.; CUZZOCREA, S.; SCOTT, G.S.; HAKE, P.; O'CONNOR, M. P.; ZINGARELLI, B.; SALZMAN, A.; KUN, E. Protection against peroxynitrite-induced fibroblast injury and arthritis development by inhibition of poly(ADP-ribose) synthase. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 95, n. 7, p. 3867-3872, 1998.

TAKAMURA, T.; HARAMA, D.; MATSUOKA, S.; SHIMOKAWA, N.; NAKAMURA, Y.; OKUMURA, K, OGAWA, H.; KITAMURA, M.; NAKAO, A. Activation of the aryl hydrocarbon receptor pathway may ameliorate dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. **Immunol. Cell Biol.**, v. 88, n. 6, p. 685-689, 2010.

TENTORI, L.; PORTARENA, I.; VERNOLE, P. Effects of single or split exposure of leukemic cells to temozolomide, combined with poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on cell growth, chromosomal aberrations and base excision repair components. **Cancer Chemother Pharmacol.**, v. 47, p. 361–369, 2001.

THATCHER, T. H.; MAGGIRWAR, S. B.; BAGLOLE, C. J.; LAKATOS, H. F.; GASIEWICZ, T. A.; PHIPPS, R. P.; SIME, P. J. Aryl hydrocarbon receptor-deficient mice develop heightened inflammatory responses to cigarette smoke and endotoxin associated with rapid loss of the nuclear factor-kappaB component RelB. **Am. J. Pathol.**, v. 170, n. 3, p. 855-864, 2007.

THOMAS, R. S.; PEN, S. G.; NELDEN, K.; BRADFIELD, C. A; RANK, D. R. Sequence variation na phylogenic history of the mouse Ahr gene. **Pharmacogenetics**, v. 12, p. 151-163, 2002.

THOMSEN J. S.; KEITZ S.; STROM A.; GUSTAFSSON J. A.; HES-1.a novel target gene for the aryl hydrocarbon receptor. **Mol. Pharmacol.**, v. 65, p. 165–171, 2004.

THURMOND, L. M.; LAUER, L. D.; HOUSE, R. V.; COOK, J. C.; DEAN, J. H. Immunosuppression following Exposure to 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) in Ah-Responsive and Ah-Nonresponsive Mice. **Toxicol. Appied. Pharmacol.**, v. 91, p. 450-460, 1987.

TIAN, Y.; RABSON, A. B.; GALLO, M. A. Ah receptor and NF-kappaB Interactions: Mechanisms and physiological implications. **Chem. Biol. Interact.**, v. 141, n. 1-2, p. 97-115, 2002.

TICE R. R.; AGURELL E.; ANDERSON D.; BURLINSON B.; HARTMANN A.; KOBAYASHI H.; MIYAMAE Y.; ROJAS E.; RYU J. C.; SASAKI Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environ. Mol. Mutagen.**, v. 35, n. 3, p. 206-221, 2000.

TROMBINO, A. F.; NEAR, R. I.; MATULKA, R. A.; YANG, S.; HAFER, L. J.; TOSELLI, P. A.; KIM, D. W.; ROGERS, A. E.; SONENSHEIN, G. E.; SHERR, D. H. Expression of the aryl hydrocarbon receptor/transcription factor (AhR) and AhR-regulated CYP1 gene transcripts in a rat model of mammary tumorigenesis. **Breast Cancer Res. Treat.** v. 63, n. 2, p.117-131, 2000.

TRUCCO, C.; OLIVER, F. J.; DE MURCIA, G.; MENISSIER DE MURCIA, J. DNA repair defect in poly(ADP-ribose) polymerase-deficient cell lines. **Nucleic Acids Res.**, v. 26, p. 2644-2649, 1998.

UEDA, Y.; KONDO, M.; KELSOE, G. Inflammation and the reciprocal production of granulocytes and lymphocytes in bone marrow. **J. Exp. Med.**, v. 201, n. 11, p. 1771-1780, 2005.

VAN DEN HEUVEL S. Cell-cycle regulation. **WormBook.**, v. 21, p. 1-16, 2005.

VASQUEZ-BRAVO, YANIRA DE LOS ANGELES . **Aspectos da resposta inflamatória aguda em linhagens de camundongos com reatividade máxima e mínima obtidas por seleção genética bidirecional.** 1996. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

VAZIRI, C.; SCHNEIDER, A.; SHERR, D. H.; FALLER, D. V. Expression of the aryl hydrocarbon receptor is regulated by serum and mitogenic growth factors in murine 3T3 fibroblasts. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 42, p. 25921-25927, 1996.

VRZAL, R.; ULRICHOVA, J.; DVORAK, Z. Aromatic hydrocarbon receptor status in the metabolism of xenobiotics under normal and pathophysiological conditions. **Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech. Repub.**, v. 148, n. 1, p. 3-10, 2004.

WALZOG, B.; WEINMANN, P.; JEBLONSKI, F.; SCHARFFETTER-KOCHANEK, K.; BOMMERT, K.; GAEHTGENS, P. A. role for beta(2) integrins (CD11/CD18) in the regulation of cytokine gene expression of polymorphonuclear neutrophils during the inflammatory response. **FASEB J.**, v. 13, p. 1855-1865, 1999.

WARD, E. C.; MURRAY, M. J.; LAUER, L. D.; HOUSE, R. V.; IRONS, R.; DEAN, J. H. Immunosuppression following 7,12-dimethylbenz[a]anthracene exposure in B6C3F1 mice. I. Effects on humoral immunity and host resistance. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 75, n. 2, p. 299-308, 1984.

- WHILHELMSSON A.; WHITELAW M. L.; GUSTAFSSON J. A.; POELLINGER L. Agonistic and antagonistic effects of β -naphthoflavone of dioxin receptor function. **J. Biol. Chem.**, v. 269, p. 19028–19033, 1994.
- WU, Y.; BARNABAS, N.; RUSSO, I. H.; YANG, X.; RUSSO, J. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in chromosomes 9 and 16 in human breast epithelial cells transformed by chemical carcinogens. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 5, p. 1069-1074, 1997.
- WYLLIE A. H. "Where, O death, is thy sting?" A brief review of apoptosis biology. **Mol. Neurobiol.**, v. 42, n. 1, p. 4-9, 2010.
- YAMAGUCHI, K.; MATULKA, R. A.; SHNEIDER, A. M.; TOSELLI, P.; TROMBINO, A. F.; YANG, S.; HAFFER, L. J.; MANN, K. K.; TAO, X. J.; TILLY, J. L.; NEAR, R. I.; SHERR, D. H. Induction of PreB cell apoptosis by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in long-term primary murine bone marrow cultures. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 147, n. 2, p. 190-203, 1997.
- YOON, B.; HIRABAYASHI, Y.; KAWASAKI, Y.; KODAMA, Y.; KANNEKO, T.; KANNO, J.; KIM, D.Y.; FUJII-KURIYAMA, Y.; INOUE, T. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzene-induced hematotoxicity. **Toxicol. Sci.**, v. 70, p. 150-156, 2002.
- YOON, B. I.; LI, G. X.; KITADA, K.; KAWASAKI, Y.; IGARASHI, K.; KODAMA, Y.; INOUE, T.; KOBAYASHI, K.; KANNO, J.; KIM, D. Y.; INOUE, T.; HIRABAYASHI, Y. Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue. **Environ. Health. Perspect.**, v. 111, n. 11, p. 1411-1420, 2003.
- YOUNG, N. S. Acquired aplastic anemia. **Ann. Intern. Med.**, v. 136, n. 7, p. 534-46, 2002.
- ZANICHELLI, F.; CAPASSO, S.; CIPOLLARO, M.; PAGNOTTA, E.; CARTENI, M.; CASALE, F.; IORI, R.; GALDERISI, U.; Hematopoiese, fatores de crescimento e aplicação clínica da eritropoetina na anemia da prematuridade. **Pediatria**, v. 17, n. 3, p. 124-142, 1995.
- ZHOU, J.; AHN, J.; WILSON, S. H.; PRIVES, C. A role for p53 in base excision repair. **EMBO J.**, v. 20, n. 4, p. 914-923, 2001.
- ZHU, J.; HEYWORTH, C. M.; GLASOW, A.; HUANG, Q. H.; PETRIE, K.; LANOTTE, M.; BENOIT, G.; GALLAGHER, R.; WAXMAN, S.; ENVER, T.; ZELEN, A. Lineage restriction of the *RAR α* gene expression in myeloid differentiation. **Blood**, v. 98, n. 8, p. 2563-2567, 2001.