

Jeniffer Dantas Ferreira

EXPOSIÇÃO PRÉ-CONCEPCIONAL, GESTACIONAL E DURANTE A
LACTAÇÃO A PESTICIDAS DOMÉSTICOS E OUTROS CONTAMINANTES
AMBIENTAIS E LEUCEMIAS EM LACTENTES

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA SÉRGIO AROUCA – ENSP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA E MEIO AMBIENTE

JENIFFER DANTAS FERREIRA

EXPOSIÇÃO PRÉ-CONCEPCIONAL, GESTACIONAL E DURANTE A
LACTAÇÃO A PESTICIDAS DOMÉSTICOS E OUTROS CONTAMINANTES
AMBIENTAIS E LEUCEMIAS EM LACTENTES

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de
Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da
Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – ENSP,
como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientador:

Dr. Sérgio Koifman

Co-Orientadora:

Dr^a. Maria do Socorro Pombo de Oliveira

Rio de Janeiro,

Outubro de 2010.

**“A mente que se abre para uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original”**

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Professor Dr. Sergio Koifman pela impecável orientação, contribuindo para meu crescimento intelectual e acadêmico. Por meio de leituras atenciosas, comentários e sugestões em nossas reuniões, incentivou-me durante toda a execução e elaboração do trabalho. Logo, sem ele não teria sido possível realizá-lo.

Ao Arnaldo Couto pelo seu companheirismo, disponibilidade e entusiasmo em ler meus escritos, ouvir minhas dúvidas e dar sugestões indispensáveis para elaboração desta dissertação. Além das “análises críticas”, ter me ensinado a montar belas apresentações no Power Point, treiná-las comigo e me tranquilizar antes de nossas apresentações em aulas, seminários e congressos.

À minha mãe Sueli e irmã Michelle pela compreensão e paciência nos momentos difíceis da elaboração deste.

Ao Rodrigo Lee pelo apoio incondicional, carinho e incentivo em todos os momentos.

Às professoras Ilce e Luciana pela disponibilidade de participação na banca de qualificação, e conseqüentemente, suas sugestões enriquecedoras para este trabalho.

À Dr^a. Maria do Socorro Pombo de Oliveira, co-orientadora deste estudo e chefe do Programa de Oncologia e Hematologia Pediátricos do Instituto Nacional do Câncer, por disponibilizar os dados maternos referentes ao “Estudo Multi-Institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, pois sem estes, tornar-se-ia inviável as análises epidemiológicas deste estudo.

À Escola Nacional de Saúde Pública (Ensp/Fiocruz), ao Conselho Nacional de Pesquisas e Desenvolvimento Científico (CNPq) e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), à Swiss Bridge

Foundation e ao Fogarty International Center pelo suporte técnico e financeiro, indispensáveis para a realização deste trabalho.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para elaboração desta dissertação.

SUMÁRIO

Pág.

1- INTRODUÇÃO	01
2- REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1- Hematopoiese e Leucemogênese	03
2.2- Classificação das Leucemias	04
2.3- Contextualização Histórica.....	05
2.4- Epidemiologia Molecular das Leucemias	07
2.5- O Gene <i>MLL</i>	09
2.6- Exposições Ambientais e as Leucemias	10
2.7- Pesticidas	11
3- JUSTIFICATIVA	14
4- OBJETIVOS	15
5- 1ª Proposta de artigo: Exposições Ambientais e Leucemias na Infância: Uma análise exploratória no Brasil	16
5.1 – Resumo	17
5.2 – Abstract	18
5.3 – Introdução	19
5.4 – Metodologia	21
5.4.1 – Desenho e população de Estudo	21
5.4.2 – Coleta de Dados	22
5.4.3 – Variáveis do Estudo	23
5.4.4 – Análise Estatística	24
5.5 – Resultados	25
5.6 – Discussão	28
5.7 – Conclusões	33
5.8 – Referencias Bibliográficas	37
6- 2ª Proposta de artigo: Gestação, Exposição a pesticidas e leucemias em lactentes no Brasil	40

6.1 – Resumo	41
6.2 – Abstract	42
6.3 – Introdução	43
6.4 – Metodologia	45
6.4.1 – População de Estudo	45
6.4.2 – Desenho de Estudo	45
6.4.3 – Seleção de Casos e Controles	46
6.4.4 – Critérios de Exclusão	46
6.4.5 – Coleta de Dados	46
6.4.6 – Análise Molecular	48
6.4.7 – Análise Estatística	48
6.4.8 – Aspectos Éticos	49
6.5 – Resultados	49
6.6 – Discussão	50
6.7 – Conclusões	55
6.8 – Referências Bibliográficas	60
7- CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
9- APÊNDICES	69
9.1 – Modelo de Análise Fatorial (casos e controles)	69
9.2 – Modelo de Análise Fatorial (casos)	71
9.3 – Modelo de Análise Fatorial (controles)	74
9.4 – Colaboradores	76
9.5 – Agradecimentos	76
9.6 – Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia ..	77
10- ANEXOS	78
10.1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (casos)	79
10.2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (controles)	82
10.3 – Questionário	85

1- INTRODUÇÃO

O câncer na infância constitui um conjunto de doenças raras perfazendo 0,5 a 3% de todos os tumores nas populações (Reis et al., 2007). As leucemias da infância (crianças com idade inferior ou igual a 5 anos) constituem um grupo heterogêneo de doenças, tanto no que diz respeito às expressões imunofenotípicas e morfológicas, quanto a seus mecanismos etiológicos. Embora constituam uma doença rara, a incidência da leucemia aguda corresponde a cerca de 30% dos diagnósticos de câncer na infância, sendo mais comum em menores de 15 anos (Turner et al., 2010; Belson et al., 2007; Buffler et al., 2005; Pui, 2003; Braga et al., 2002; Linet et al., 1999).

Na Europa, a taxa de incidência global de Leucemia Linfóide Aguda (LLA), em crianças na faixa etária entre 0 e 14 anos, é de 36 por milhão de crianças (Coebergh et al., 2006). A taxa é semelhante nos Estados Unidos, 43 por milhão (Buffler et al., 2005). Em países africanos e asiáticos a incidência chega a ser 10 vezes menor (Greaves, 2006). As diferenças não são percebidas apenas geograficamente, mas também por meio de fatores raciais, de acordo com o registro de câncer norte-americano, cujos dados de 2006 demonstram taxas maiores em crianças brancas frente negras (SEER, 2006).

No Brasil, a taxa de incidência global varia de 36 a 41 por milhão de crianças no sexo feminino e masculino, respectivamente (Ferlay et al., 2004). De acordo com dados do Registro de Câncer de Base Populacional (RCBP), as taxas de incidência variam por faixas etárias, por estados brasileiros e por sexo, sendo maior no sexo masculino em quase todas as localidades. As taxas médias de incidência ajustadas por idade variaram entre 0,33/100.000 em João Pessoa e 2,13/100.000 em São Paulo, para o sexo feminino e 1,11/100.00 em

João Pessoa e 3,19/100.000 em Natal, para o sexo masculino (Reis et al., 2007).

Considerando a mortalidade por leucemia em menores de 15 anos, as taxas apresentam decréscimo desde a década de 70 em países desenvolvidos (La Vecchia et al., 1998). Esta queda pode ser observada também no Brasil, pois o mesmo foi observado em Goiânia no período de 1979 a 1995 (Braga, 2000).

As diferenças entre as taxas de incidência e mortalidade podem estar relacionadas a diversos fatores, entre os quais diferentes métodos diagnósticos, falta de registros populacionais, fatores nutricionais, e fatores relacionados a exposições ambientais distintos em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Acredita-se que em países em desenvolvimento, que cursam com melhora do nível sócio-econômico, o aumento na incidência em crianças seja decorrente de mudanças no estilo de vida ou ambiental, uma vez que o status econômico se configura como um indicador de exposição a carcinógenos potenciais como radiação e substâncias químicas advindas da dieta (Edgar & Morgan, 2008).

Por se tratar de uma doença com etiologia múltipla, os estudos epidemiológicos têm concentrado seus esforços na distinção dos fatores de risco (Pelissari et al., 2009; Hamerschlak, 2008). Dentre os ambientais, genéticos e infecciosos se destacam o consumo de álcool, o tabagismo, a exposição a substâncias químicas, infecções e outros agentes que possam estar associados aos polimorfismos e fusões gênicas.

Nessa perspectiva, uma parceria entre pesquisadores da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – ENSP e do Instituto Nacional do Câncer – INCA, foi estabelecida. Conseguimos através dos estudos realizados até o momento, conhecer e entender melhor a biologia e como a mutação do gene *MLL* afeta a clínica do paciente. Entretanto, temos o intuito de aprofundar o conhecimento acerca da etiologia das leucemias, esclarecendo o mecanismo de leucemogênese e contribuindo para a sobrevida destas crianças.

Este estudo foi constituído de duas partes: como primeira proposta de artigo da dissertação de mestrado foi realizada uma análise exploratória dos dados secundários obtidos através da aplicação de questionários com mães

brasileiras de lactentes portadores de leucemia e não portadores, utilizadas como controles, a fim de buscar as relações inaparentes associadas às leucemias, utilizando a análise fatorial exploratória como ferramenta estatística.

E em um segundo momento, comparou-se as exposições a pesticidas durante o período pré-concepcional, gestacional e pós-natal e as fusões do gene *MLL* em lactentes portadores de leucemias agudas.

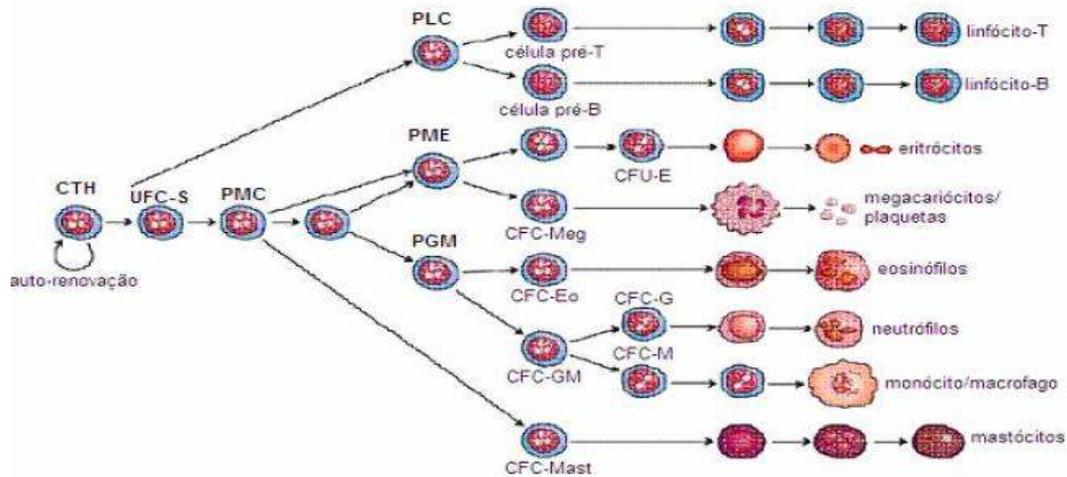
2- REFERENCIAL TEÓRICO

2.1-Hematopoiese e Leucemogênese

A hematopoiese compreende o processo de formação, desenvolvimento e maturação da linhagem hematopoiética a partir de um precursor celular indiferenciado que se encontra na medula óssea. Tem como pré-requisito um microambiente normal, capaz de sintetizar fatores de crescimento necessários às células progenitoras de modo que possam desempenhar suas funções específicas (Martins et al., 2001).

A célula inicial pluripotente, também chamada de célula-tronco, é capaz de se auto-regenerar, isto é, se dividir assimetricamente dando origem a uma nova célula-tronco e a uma célula progenitora com linhagem específica definida (fig.1), ocorrendo a perda potencial de auto-regeneração nesta última. Em um processo de hematopoiese normal, as Unidades Formadoras de Colônia (UFC), são estimuladas por fatores específicos (citocinas), podendo se diferenciar em progenitoras linfóides e mielóides, seguida da diferenciação dos elementos figurados do sangue: granulócitos, eritrócitos, monócitos, linfócitos e plaquetas, conforme a figura abaixo.

Figura 1 – Hematopoiese Normal (Hitzler et al., 2005).



Fonte: Hitzler e Zipursk, 2005. Células-tronco hematopoiéticas (CTH) pluripotentes; Unidade Formadora de Colônia Esplênica (UFC-S); Progenitor Linfóide Comum (PLC); Progenitor Mielóide Comum (PMC); Progenitor Megacariocítico-eritrocitário (PME); Progenitor Granulocítico-megariocitário (PGM); Células Formadoras de Colônia (CFC); Unidade Formadora de Colônia (CFU).

Sendo assim, a leucemia pode ser vista como alterações nos mecanismos homeostáticos que regulam a produção e diferenciação celular sanguínea, acarretando em uma desordem do sistema hematopoiético, decorrente de uma ou mais mutações. Essas alterações podem culminar em um processo multifatorial através da combinação de fatores genéticos, ambientais e de susceptibilidade individual (Pombo-de-Oliveira et al., 1986; Perera, 1996; Hunger et al., 1998; Bhatia et al., 2000; Greaves, 2002; Labuda et al., 2002).

O efeito dos fatores externos é modulado pelos genes, cujas alterações podem comprometer os processos de metabolismo, detoxificação e eliminação dos carcinógenos exógenos podendo levar a alterações celulares leucemogênicas. Desta forma, o estudo das alterações genéticas assumem grande relevância para a compreensão dos processos de desenvolvimento das leucemias.

2.2- Classificação das Leucemias

As leucemias são classificadas em quatro grupos: Leucemia Linfóide ou Mielóide Aguda (LLA ou LMA) e Leucemia Linfóide ou Mielóide Crônica (LLC ou

LMC). Essa classificação depende da velocidade de progressão da doença, rápida (nas leucemias agudas) e lenta (nas crônicas) e também o tipo celular afetado (linfóide ou mielóide) (Martins et al., 2001).

As leucemias agudas são as mais comuns na infância, sendo caracterizadas por células imaturas, que perdem a capacidade de diferenciação celular e que se proliferam exacerbadamente, acumulando 25% ou mais de blastos na medula óssea. Nas leucemias crônicas, as células malignas se desenvolvem em estágios mais tardios, assemelhando-se as células normais, funcionando, em geral, adequadamente, permitindo um curso inicial da doença mais brando (Hamerschlak, 2008).

As LLA são classificadas morfológicamente em L1, L2 e L3 de acordo com a classificação do grupo *French-American-British* (FAB) e imunofenotipicamente, pelos critérios do *European Group for Immunophenotyping Leukaemia* (EGIL), em LLA pró-B, precursoras B, pré-B, B-madura e as células T em pré-T, T-intermediário e T-maduro (Béné et al., 1999).

As LMA possuem oito subgrupos morfológicos distintos: M0 (mieloblástica com diferenciação mínima); M1 (mieloblástica aguda sem maturação); M2 (mieloblástica aguda com diferenciação); M3 (promielocítica); M4 (mielocítica); M5 (monocítica); M6 (eritrocítica); e M7 (megacariocítica) (Hamerschlak, 2008; Martins et al., 2001).

Os subgrupos de LLA representam 75% dos casos leucêmicos pediátricos com incidência mais elevada na faixa entre 2 e 5 anos (Bhatia et al., 2000; Belson et al., 2007), enquanto a LMA, presente em 15-20% dos casos, não apresenta nenhuma associação com a faixa etária.

O termo leucemia aguda da infância (IL) é usualmente empregado quando o diagnóstico é realizado dentre dos 12 primeiros meses de vida, sendo considerado em alguns países até os 18 meses (Emerenciano et al., 2007).

2.3- Contextualização Histórica

Em 1971, Knudson divulga seu estudo com 48 crianças portadoras de retinoblastoma, onde defende a hipótese “*Two-hits model*”, cuja origem do câncer foi atribuída a um processo envolvendo mutações intra-uterina (primeiro golpe) e pós-natal (segundo golpe). Os registros destas crianças atendidas no Hospital Universitário de Houston M. D. Anderson, entre 1944 e 1969, foram reanalisados. As crianças apresentavam-se em diferentes estágios da doença, devido a herança germinativa ou mutação somática, apresentando-se nos seguintes grupos de comparação: em não afetadas, tumor unilateral e bilateral.

O estudo mostra ainda que a gravidade da doença estava ligada a fase de acometimento pelo “golpe”, visto que em casos decorrentes de mutação somática o curso da doença era de forma mais branda (Alfred & Knudson, 1971).

Como vimos anteriormente, acredita-se que a leucemogênese decorra de um processo multifatorial, com etiologia ainda não definida, portanto os estudos epidemiológicos e moleculares contemporâneos ao Knudson ensejam o esclarecimento desse mecanismo. Nesse contexto foram elaboradas duas hipóteses explicativas acerca do processo etiopatogênico da doença na infância: a teoria de Kinlen e de Greaves.

Em 1983, nas cidades de Seascale e Thurso, um grande número de casos de leucemia e linfomas não-Hodgkin surgiram, principalmente em crianças, moradores dos arredores das usinas nucleares Sellafield e Dounreay, respectivamente. Acreditava-se que os casos eram decorrentes da exposição à radiação (Kinlen, 1988).

Contudo, em 1988, Kinlen propôs que devido à implantação das usinas e o grande influxo populacional em tais cidades, essa mistura populacional (urbana e rural) incomum introduziria uma epidemia de infecções, cujas populações não haviam sido expostas a determinados agentes anteriormente. Por se tratar de locais isolados, a comunidade residente desenvolveria sua imunidade de maneira mais vulnerável frente aos demais, contra uma determinada infecção viral. A leucemia seria uma resposta rara a essa infecção.

No mesmo ano, Greaves adapta a teoria de Knudson, propondo que mutações aleatórias ocorreriam ainda na fase fetal e que a ausência de

agentes infecciosos na primeira infância e, subseqüentes infecções tardias causariam desregulação na resposta imune, constituindo um segundo evento, proliferando um clone leucêmico latente.

Em 1995, Kinlen testa sua hipótese na cidade de Glenthes, na Escócia. Tratava-se de uma cidade rural que recebeu grande quantitativo populacional, concomitantemente a ascensão da taxa de incidência da leucemia infantil (Kinlen, 1995). As observações do estudo fomentaram a proposta de que alguns subtipos leucêmicos possam resultar, porém não usualmente, de infecções comuns em indivíduos não imunes a “mistura populacional”.

A idéia essencial destas hipóteses é que o sistema imunológico do lactente carece de modulação mediante exposições a infecções naturais. A não ocorrência desta modulação na etapa inicial da vida, e subseqüentes infecções no segundo ou terceiro ano de idade, período marcado por infecções comuns na infância, desencadearia estresse apoptótico e proliferativo para a medula óssea, favorecendo o aparecimento de clones leucêmicos (Greaves, 2005).

2.4- Epidemiologia Molecular das Leucemias

As anormalidades genéticas são freqüentemente encontradas em células blásticas, sendo que, em crianças, aproximadamente 90% apresentam anormalidades cromossômicas, incluindo alterações estruturais (mutações pontuais, deleções, translocações) e no número dos cromossomos (hiperdiploidia, haploidia). Essas alterações são adquiridas com a doença, desaparecendo após a remissão (Greaves, 1999).

Em 1960, Peter C. Nowel e David Hungerford descreveram a primeira translocação t(9:22) que compreende na fusão do genes *BCR* (cromossomo 9q) e *ABL* (cromossomo 22q), presente principalmente na LMC, conhecido como cromossomo Philadelphia. Este codifica uma proteína com alta atividade de tirosina quinase que interfere na transdução de sinais celulares e altera o metabolismo e a proliferação celular, independente dos sinais enviados por

fatores de crescimento. Além de apresentar certa resistência a terapias devido ao bloqueio do mecanismo apoptótico (Hamerschlak, 2008).

O prognóstico, em geral, pode ser determinado pelos fatores citogenéticos, pois a detecção das alterações gênicas possibilita a conduta terapêutica adequada ao paciente (Hamerschlak, 2008; Béné et al., 1999). Na leucemia mielóide aguda, o cariótipo é fundamental na decisão da terapêutica pós-remissão, e fatores moleculares definem o tratamento em indivíduos de cariótipo normal. Na leucemia mielóide crônica, a evolução clonal está associada à evolução para a fase blástica. Na leucemia linfóide aguda, fatores como hiperdiploidia, t (12:21), estão associados a bom prognóstico, ao passo que portadores da t (4:11) e t (9:22) são considerados com prognóstico desfavorável (Greaves, 2003).

A hiperdiploidia consiste na presença de 51 a 65 cromossomos por célula leucêmica e está associada ao bom prognóstico, pois essa célula tem maior propensão a entrar em apoptose, enquanto que blastos haplóides estão relacionados ao mau prognóstico (Heerema et al., 2000).

As translocações compreendem a quebra da fita dupla de DNA de cromossomos diferentes e, conseqüentemente, em recombinações ou justaposições de genes normalmente separados, envolvendo principalmente, os que codificam fatores de transcrição, resultando a desregulação da expressão do oncogene quando associados a elementos envolvidos na atividade regulatória. Usualmente, criam-se proteínas quiméricas, com propriedades alteradas, sugestivamente envolvidas na gênese das LLA, visto que estudos demonstraram que esses eventos podem ocorrer ainda durante a vida fetal (Greaves, 2005; Greaves, 2003).

Estudos com gêmeos idênticos revelaram que a origem da leucemia decorre de eventos mutagênicos durante vida intra-uterina durante a hematopoiese fetal (Greaves, 2002; Belson et al., 2007), resultante de exposições que alteram a função da DNA Topoisomerase II, enzima responsável pelo material genético (Greaves, 2002; Alexander et al., 2001; Greaves, 1999). Sendo que, o uso de chás para emagrecimento e antibióticos quinolonas, assim como a exposição a benzeno, fenóis, flavonóides,

quimioterápicos e pesticidas podem inibir a ação dessa enzima (Alexander et al., 2001).

Devido ao curto período de latência das leucemias na infância, o mecanismo de leucemogênese é atribuído ao fato do feto em crescimento ou o recém-nato ser mais sensível aos efeitos de danos potenciais ao DNA durante a fase inicial da gestação ou no primeiro semestre de vida.

Segundo a hipótese de Greaves (1988), as alterações genéticas que prejudicam a diferenciação celular, podem alterar a proliferação e a sobrevivência de um clone maligno, principalmente com a exposição pré-natal contínua a substâncias químicas genotóxicas. A translocação do *MLL* pode ser considerada o primeiro “golpe” e o segundo, os outros efeitos mutagênicos posteriores, a fim de expandir o clone mutante após o nascimento.

2.5- O Gene *MLL*

O gene *MLL* compreende pelo menos 36 éxons e codifica a proteína *MLL* (“*Mixed Lineage Leukemia*”), de estrutura complexa (3969 aminoácidos), homóloga humana do *Trithorax* da *Drosophila*, que é um regulador crucial do desenvolvimento. Além do domínio homólogo, apresenta um domínio de ligação ao DNA, sendo responsável pela regulação da expressão de genes alvos, dentre os quais o *HOX*, envolvido na regulação da hematopoiese normal (Emerenciano, 2007; Kritsov et al., 2007; Nakada et al., 2006; Yu et al., 1998).

O *MLL* atua também como regulador positivo de expressão durante o desenvolvimento embrionário e hematopoiético inicial gênica (Emerenciano et al., 2007), sendo relevante para o estudo de leucemias na infância.

As translocações no gene *MLL* são encontradas com frequência em leucemias secundárias, após tratamento quimioterápico com inibidores da enzima topoisomerase II (Nakada et al., 2006; Alexander et al., 2001). Por este motivo, acredita-se que a exposição química ainda *in utero* afetaria o funcionamento da enzima topo-II, sugerindo que o curto período de latência da doença estaria associado a alteração neste gene, visto que os rearranjos são mais frequentes em menores de um ano (Emerenciano et al., 2007; Greaves, 2003).

Apresenta fusão com mais de 30 outros genes, o que pode acarretar em diferentes efeitos na leucemogênese (Emerenciano et al., 2007; Nakada et al., 2006). Em menores de 1 ano, a alteração mais freqüente(em mais de 80% dos casos) é o rearranjo do gene *MLL* no cromossomo 11q23 (Emerenciano et al., 2007).

Estudos genético-moleculares envolvendo a fusão gênica do *MLL* reafirmam a origem intra-uterina das leucemias, onde a mesma seqüência de fusões foi observada em ambos os gêmeos idênticos (Greaves et al., 2003).

Outro estudo que ratificou essa hipótese foi desenvolvido pelo grupo de Greaves, a partir de amostras de sangue coletadas ao nascimento (Guthrie Card), geralmente utilizadas no diagnóstico de erros inatos do metabolismo. Nesse estudo (Gale et al., 1997), as amostras de crianças que desenvolveram a leucemia na primeira infância foram submetidas a testes moleculares que evidenciaram o marcador molecular do clone leucêmico (rearranjos no *MLL*) em baixos níveis, reforçando a idéia de origem fetal.

O rastreamento de cordão umbilical (Mori et al., 2002) conduzido pelo mesmo pesquisador evidenciou presença de fusões gênicas características das leucemias (TEL/AML1, MLL/AF4, AML1/ETO), corroborando sua hipótese.

2.6- Exposições Ambientais e as Leucemias

Por se tratar de uma doença com etiologia desconhecida, diversos estudos têm sido realizados a fim de contribuir para a distinção dos fatores de risco ambientais, genéticos e/ou infecciosos. Entre os estudos já realizados, algumas investigações norte-americanas, asiáticas e européias apontam a relevância das exposições ambientais na causalidade das leucemias na infância (Swaminathan et al., 2008; Wakeford & Little, 20003; Shu et al., 2002). Dentre as várias causas possíveis estão: fumaça de exaustão de carros, pesticidas, fumaça do cigarro (no caso de pais fumantes), consumo de medicamentos durante a gravidez, consumo de álcool e drogas durante a gravidez, contaminação química da água de beber e infecções (Greaves, 2006).

Estudos recentes têm demonstrado a associação positiva entre o alto peso ao nascer e as leucemias agudas, como é o caso de Koifman & Pombo-de-Oliveira (2008), cujo risco foi de 1,28 vezes maior para o desenvolvimento de leucemia quando peso do lactente era superior a 4kg quando comparado aos lactentes nascidos com peso normal (entre 2500 e 3999g) (Koifman & Pombo-de-Oliveira, 2008).

A exposição à radiação ionizante é um fator de risco reconhecidamente associado à ocorrência de leucemias, uma vez que estudos com sobreviventes das bombas atômicas no Japão apresentaram riscos elevados de leucemia atribuídos àquela exposição (Wakeford & Little, 2003).

Em 1979, um estudo publicado por Wertheimer e Leeper demonstrou associação positiva entre a exposição a campos magnéticos de baixa frequência e leucemia em menores de 19 anos (Pelissari et al., 2009). Posteriormente, diferentes tipos de câncer foram relacionados com tal exposição. Em 2002, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer, classificou como possível carcinógeno humano os campos magnéticos de baixa frequência (IARC, 2002).

Dentre os solventes orgânicos, o benzeno foi reconhecido como agente leucêmico (IARC, 1987), mas grande parte dos agentes químicos se apresenta como potencial efeito carcinogênico e não foram classificados, favorecendo sua exposição ocupacional e ambiental.

Em relação à exposição medicamentosa durante a gestação, um estudo caso-controle sugeriu que o uso de vitaminas e suplementos de ferro possa reduzir o risco de leucemias, enquanto que o uso de anfetaminas e pílulas dietéticas poderia aumentar o risco de leucemia na infância (Wen et al., 2002). Outro estudo caso-controle acerca das exposições maternas durante a gestação e as leucemias na infância, realizado na população brasileira, indicou aumento de 40% no risco para o desenvolvimento das leucemias na infância com antecedentes de uso de dipirona no período gestacional (Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006).

No que tange a outras exposições químicas, como é o caso do tabagismo, ainda existem resultados controversos na literatura. Sabe-se, entretanto, que o fumo contém diversas substâncias carcinogênicas e alguns

destes compostos foram encontrados na placenta, sangue fetal, urina de recém-natos e leite materno de fumantes, sugerindo o tabagismo como um comportamento de risco para o desenvolvimento de leucemias na infância (Pang et al., 2003).

2.7- Pesticidas

O uso de pesticidas pelos seres humanos foi registrado historicamente desde aproximadamente 500 a.C., tendo sido primeiramente utilizado o enxofre. No século XV, mercúrio e arsênio passaram a compor os produtos de combate as pragas (McMichael, 2001). Em 1939, Paul Muller descobriu o DDT utilizado em escala mundial. Contudo, posteriormente surgiram as primeiras observações acerca dos efeitos dos pesticidas à saúde.

Os efeitos dependem do componente químico do pesticida, que tem aumentado em variedade no decorrer dos anos, mas sabe-se que está associado ao aumento no risco de desenvolvimento de diversos cânceres dentre os quais o de cérebro, próstata, rins e malignidades hematopoiéticas (Bassil et al., 2007).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado associação positiva entre a exposição à pesticidas e o aumento de neoplasias hematopoiéticas em crianças, principalmente leucemias e linfomas (Rudant et al., 2007; Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006; Zahm & Ward, 1998).

A exposição a pesticidas pode ocorrer de diversas maneiras durante a infância, através da contaminação por roupas de trabalhos dos pais, uso doméstico ou resíduos presentes em alimentos, água, ar e solo (Rudant et al., 2007; Menegaux et al., 2006). Além da exposição durante a vida intra-uterina. Discute-se a importância destas fontes no processo de leucemogênese infantil.

Devido ao curto período de latência da doença, acredita-se que a exposição intra-uterina desempenhe importante papel nesse processo, sendo corroborado por estudos anteriores (Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006).

A fim de avaliar as fontes de contaminação, um estudo francês comparou o uso de pesticidas entre mães de crianças portadoras de leucemias

e linfomas e mães de controles, encontrando OR superior nas mães de casos do que de controles, sendo esta diferença estatisticamente significativa $OR=2,2$ (1,8-2,6 IC a 95%). Mesmo tendo realizado a subdivisão dentre os subtipos leucêmicos, tipos de pesticidas e período de exposição, o estudo encontra associações positivas na maioria dos resultados. Os autores concluem que o uso doméstico pode desenvolver um papel na etiologia das leucemias e que a exposição pré-natal pode constituir uma janela de vulnerabilidade fetal (Rudant et al., 2007).

Um estudo de meta-análise (Bassil et al., 2007) apontou que de 23 estudos envolvendo exposição a pesticidas e desenvolvimento de leucemias, apenas 1 apresentou associação positiva entre inseticidas e aumento do risco da doença na infância, ressaltando o período de exposição pré-concepcional, gestacional e pós-natal, tendo maior relevância o período gestacional (Ma et al., 2002).

Um estudo caso-controle realizado na população brasileira apontou associação positiva entre o uso de pesticidas domésticos durante a gestação e o aumento significativo de cerca de 2 vezes no risco de leucemias na infância (Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006).

Os achados na literatura reforçam a hipótese que os pesticidas desempenham papel na leucemogênese infantil. Entretanto, apesar das evidências no aumento do risco, outros estudos devem ser realizados com intuito de estabelecer associações dentre os diversos tipos de pesticidas e os subtipos leucêmicos infantis. Entre os quais, a relação da especificidade química dos pesticidas com o desenvolvimento de neoplasias.

3- JUSTIFICATIVA

A leucemia na infância apresenta variações nas suas taxas de incidência. Diferenças que são encontradas tanto entre continentes, como é o caso da Europa, África, Ásia e Américas, quanto dentro do mesmo país, no caso do Brasil, em que as variações ocorrem entre as cidades. A percepção dessas variações e os fatores nela envolvidos nos levam a especular que os casos de leucemia contam com uma modificação genômica própria e específica, aliada aos fatores ambientais e a ocorrência de infecções.

Devido à constituição genética, cada indivíduo possui uma capacidade diferente no metabolismo de carcinógenos e, conseqüentemente, no risco individual de vir a desenvolver o câncer. O padrão imuno-molecular, as informações epidemiológicas e os dados etiopatológicos consistentes sugerem que as leucemias são causadas por mecanismos multifatoriais. Por isso, um diagnóstico correto, rápido e preciso, aliado a classificação biológica das leucemias agudas é fundamental para a orientação terapêutica.

Em relação aos adultos, lactentes e crianças apresentam maior susceptibilidade a uma variedade de agentes tóxicos, por apresentarem um sistema fisiológico ainda imaturo. Esse estudo também reforçará a importância da saúde e dos cuidados maternos ainda na gestação, no que tange as exposições que podem acarretar no desenvolvimento da leucemia na infância.

Os genes implicados na leucemogênese podem estar envolvidos na oncogênese, supressão de tumores, reguladores da transcrição, apoptose e diferenciação celular. Assim, o estudo dos fatores genéticos contribui para o preenchimento das lacunas no conhecimento acerca da etiologia da doença, somadas a alta incidência da leucemia na infância, o que fomentam o interesse pela temática.

As considerações acima reforçam que os estudos sobre leucemia infantil são os mais indicados para o estudo das exposições ambientais, visto que essas neoplasias possuem um período de latência curto da doença, possibilitando estudos com foco na exposição materna a pesticidas durante o período gestacional, que pode estar associada a alterações genéticas intra-uterinas.

4- OBJETIVOS

4.1- Objetivo Geral

Avaliar o efeito da exposição a fatores ambientais selecionados, fatores genéticos e exposição materna a pesticidas e o desenvolvimento de leucemias agudas em lactentes na população brasileira no período de 1991 a 2007.

4.2- Objetivos Específicos

- ✓ Explorar as relações de fatores ambientais, genéticos, sócio-econômicos e clínicos no processo de desenvolvimento da leucemia em lactentes;
- ✓ Descrever a distribuição da frequência da fusão do gene *MLL* (Mixed Lineage Leukemia) em lactentes portadores de leucemias infantis e controles;
- ✓ Determinar a magnitude de associação entre a exposição materna a pesticidas durante o período pré-concepcional, gestacional e durante a lactação, segundo fusão do gene *MLL* e o desenvolvimento de leucemias em lactentes.

5- 1ª PROPOSTA DE ARTIGO

EXPOSIÇÕES AMBIENTAIS E LEUCEMIAS NA INFÂNCIA: UMA ANÁLISE EXPLORATÓRIA NO BRASIL

**Jeniffer Dantas Ferreira¹, Arnaldo César Couto¹, Luciana Correia Alves¹,
Maria do Socorro Pombo de Oliveira², Sergio Koifman¹, Brazilian
Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia³.**

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, ENSP, FIOCRUZ/RJ

² Divisão de Medicina Experimental, Centro de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer/RJ

³ Membros do *Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia* listados ao final

Correspondência:

Sergio Koifman
Escola Nacional de Saúde Pública
Fundação Oswaldo Cruz
Ministério da Saúde
Rua Leopoldo Bulhões 1480,
Rio de Janeiro, RJ, 21041-210
e-mail: koifman@ensp.fiocruz.br

5.1 – RESUMO

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi explorar as relações inaparentes que diversos fatores relativos às exposições ambientais e características individuais existentes em nosso meio, possam ter no processo de desenvolvimento da leucemia na infância.

Método: A partir de um banco de dados clínicos e epidemiológicos obtido com estudo caso-controle de base hospitalar sobre fatores de risco para leucemias na infância, foi realizada análise multivariada exploratória por meio do emprego de análise de componentes principais e análise fatorial. Esta investigação é parte de um estudo multicêntrico nacional que incluiu 292 casos de leucemias em crianças com idade entre 0-12 anos e 541 controles da mesma faixa etária, hospitalizados por causas não neoplásicas em hospitais gerais próximos aos centros de origem dos casos. As informações de exposições ambientais selecionadas foram obtidas por meio de entrevista realizadas com mães de casos e controles através do questionário padronizado. A análise de componentes principais e a análise fatorial identificaram fatores associados à leucemogênese, procedendo-se em seguida a modelagem logística não condicional. Este processo permitiu determinar a magnitude de associação entre os fatores identificados com o desenvolvimento de leucemias na infância.

Resultados: O modelo com maior poder explicativo da variância observada nos dados analisados foi da ordem de 52%, apresentando três fatores considerados mais adequados na predição da leucemogênese na infância, cada um dos quais incluindo variáveis com cargas fatoriais maiores que 0,6: fator “condições relacionadas a exposições químicas na gestação”, o qual explicou 20% da variância final e incluiu as variáveis exposição a pesticidas, exposição a solventes e exposição a tintas na gravidez; fator “hábitos de vida durante a gestação”, tendo explicado 17% da variância, e incluindo exposição a tinturas de cabelo e cosméticos para alisamento; e fator “consumo de

serviços de saúde durante a gestação”, explicando 15% da variância e incluindo as variáveis tipo de parto (cesariana ou parto normal) e uso de radiografia na gestação. Na análise de regressão logística, foi encontrada associação estatisticamente significativa entre o desenvolvimento de leucemias na infância e antecedentes de exposição química materna durante a gestação (OR=1,36; 95% IC=1,16-1,59), e consumo de serviços de saúde durante a gestação (OR=1,27; 95%IC =1,08-1,49).

Conclusão: Os resultados encontrados neste estudo com dados nacionais são sugestivos quanto à contribuição conjunta das exposições ambientais, e não apenas individualizadas, no desenvolvimento das leucemias na infância. Em conjunto, são apoiados pelas evidências na literatura de que o processo de carcinogênese em geral, e da leucemogênese em particular, resultem de efeitos de múltiplas mutações relacionadas à exposições ambientais conjuntas.

Palavras-chave: leucemia; infância; exposições ambientais; análise fatorial; regressão logística.

ENVIRONMENTAL EXPOSURES AND CHILDHOOD LEUKEMIA:
AN EXPLORATORY ANALYSIS IN BRAZIL

5.2 – ABSTRACT

Objectives: The aim of this study was to explore the unapparent relationships that several factors related to environmental exposures and individual characteristics existing in our environment may have on the process of developing childhood leukemia.

Methodology: From a database of clinical and epidemiological data obtained from case-control study of hospital based on risk factors for childhood leukemia, exploratory multivariate analysis was performed the principal component and factor analysis. This investigation is part of a national multicenter study that included 292 cases of leukemia in children aged 0-12 years and 541 controls of similar age, centers of origin of cases and hospitalized for non-neoplastic causes. The information of selected environmental exposures was obtained through interviews with mothers of cases and controls tied to a standardized questionnaire.

Results: The principal component analysis and factor analysis identified factors associated with leukemogenesis. Further, an unconditional logistic regression was carried out aiming to ascertain the magnitude of association between the selected factors, and their composing variables, with childhood leukemia. The model displaying the highest power explained 52% of the total variance, including 3 factors, each one of the showing factors loadings higher than 0.6: “conditions related to chemical exposure during pregnancy”, which explained 20% of the variance; “lifestyle exposures”, such as smoking and hair dyes and

hair cosmetics use during pregnancy, explaining 17% of the total variance; and “consumption of health services during pregnancy”, such as X rays and delivery type (cesarean or vaginal delivery), explaining 15% of the total variance. Logistic modeling revealed statistically significant association between childhood leukemia and chemical exposure during pregnancy (OR=1.36; 95% IC=1.16-1.59), and also with consumption of health services during pregnancy (OR=1.27; 95%IC =1.08-1.49).

Conclusion: The observed results are suggestive of the contribution of environmental exposures to childhood leukemia development, not just individually, which has been supported by the literature according to carcinogenesis in general, and to leukemogenesis in particular, as resulting from several mutations triggered by joint environmental exposures.

Key-words: leukemia; childhood; environmental exposures; factor analysis; logistic regression.

5.3 – INTRODUÇÃO

As leucemias da infância (crianças com idade inferior ou igual a 5 anos) constituem um grupo heterogêneo de doenças, tanto no que diz respeito às expressões imunofenóticas e morfológicas, quanto a seus mecanismos etiológicos. Embora constituam uma doença rara, a incidência da leucemia aguda corresponde a cerca de 30% dos diagnósticos de câncer pediátricos, sendo mais comum em menores de 15 anos (Linet et al., 1999; Braga et al., 2002; Pui et al., 2003). No que tange a taxa de mortalidade, observa-se um decréscimo desde a década de 70 em países desenvolvidos (La Vecchia et al., 1998).

Apresentam-se em duas categorias biologicamente distintas: leucemia aguda linfóide (LLA) e mielóide (LMA). Os subgrupos de LLA são os mais frequentes correspondendo à 75% dos casos leucêmicos pediátricos. Sendo a incidência mais elevada na faixa entre 2 e 5 anos (Bhatia et al., 2000; Belson et al., 2007), enquanto a LMA não apresenta nenhuma associação com esta faixa etária.

A doença consiste em uma desordem do sistema hematopoiético decorrente de uma ou mais mutações que resultam num processo multifatorial por meio da combinação de fatores genéticos, ambientais e de susceptibilidade individual (Pombo-de-Oliveira et al., 1986; Perera, 1996; Hunger et al., 1998;

Bhatia et al, 2000; Labuda et al., 2002; Belson et al., 2007; Hamerschlag, 2008).

Além do acúmulo de alterações na estrutura ou expressão de certos genes vitais – devido a mutações, translocações, perdas cromossômicas e recombinações somáticas – outros fatores podem influenciar a susceptibilidade individual como os genes de alto e baixo risco, grupo étnico, idade, sexo, fatores nutricionais e de saúde (Perera, 1996).

Um estudo publicado por Kinlen (1988) levantava a hipótese de que os deslocamentos populacionais ocorridos na Escócia com a imigração de trabalhadores de outros países, introduzindo a circulação de novos agentes biológicos, poderiam estar associados com a ascensão da taxa de incidência da leucemia infantil (Kinlen, 1995). As observações do estudo fomentaram a proposta de que alguns subtipos leucêmicos possam resultar de infecções comuns.

No mesmo ano, Greaves adapta a teoria de “dois golpes” de Knudson, propondo que mutações aleatórias ocorreriam ainda na fase fetal e que a ausência de agentes infecciosos na primeira infância e, subseqüentes infecções tardias causariam desregulação na resposta imune, constituindo um segundo evento, proliferando um clone leucêmico latente (Greaves, 1999).

Assim, diversas exposições durante o período gestacional poderiam desencadear mutações intra-uterinas, acrescidas de uma exposição pós-natal (segundo golpe), resultando nas leucemias na infância.

Desde então, fatores têm sido apontados como responsáveis pelo processo de leucemogênese. Dentre estes, destacam-se a exposição a substâncias químicas (IARC, 1987; Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006), radiações ionizantes e não-ionizantes (Belson et al., 2007; Shu et al., 2002; Wakerford et al., 2003; Wertheimer & Leeper, 1979; Infante-Rivard et al., 2003), infecções (Kinlen, 1995; McNally et al., 2004; Dickinson, 2005) e outros agentes que possam estar associados aos polimorfismos e fusões gênicas.

No Brasil, de acordo com dados do Registro de Câncer de Base Populacional (RCBP), as taxas de incidência de leucemia na infância diferem entre as faixas etárias, os estados brasileiros e por sexo, sendo maior no sexo masculino em quase todas as localidades. As taxas médias de incidência

ajustadas por idade variaram no período de 1996 a 2000 entre 0,33/100.000 em João Pessoa e 2,13/100.000 em São Paulo, para o sexo feminino e 1,11/100.00 em João Pessoa e 3,19/100.000 em Natal, para o sexo masculino (Reis et al., 2007).

Entretanto, são poucos os estudos no Brasil que focalizam a natureza dos fatores etiológicos envolvidos na gênese das leucemias pediátricas no país. Este estudo foi realizado com o objetivo de explorar as relações inaparentes que diversas condições relacionadas a exposições ambientais e características individuais existentes em nosso meio possam ter no processo de desenvolvimento das leucemias na infância na população brasileira.

5.4 – METODOLOGIA

5.4.1 – Desenho e População de Estudo

Esta investigação faz parte de um estudo multicêntrico intitulado “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos” que tem como foco investigar os mecanismos patogênicos das leucemias agudas da infância no Brasil.

Trata-se de um estudo caso-controle de base hospitalar, no qual os casos de leucemia na infância foram pareados por frequência de idade e local de residência com os controles. Entre 1991 e 2007, 695 casos foram diagnosticados como leucemias agudas confirmados pelos métodos morfológicos, imunofenotípicos e citogenético-molecular. Destes, as investigações foram realizadas com leucemias em lactentes (idade inferior a 24 meses) e leucemias em crianças na faixa etária entre 2 e 12 anos. Sendo os dados analisados obtidos das entrevistas realizadas com 292 mães de casos de leucemia e 541 mães de controles, constituindo a população analisada neste estudo (n=833).

Figura 1 – Mapa com distribuição dos centros diagnósticos participantes no Brasil.



Os 541 controles aqui analisados foram selecionados nos hospitais gerais próximos aos centros de origem dos casos (Figura 1), pertencentes ao mesmo estrato de idade e em tratamento para outras doenças não malignas. As crianças selecionadas como controles apresentaram antecedentes de hospitalização por diversas patologias com a finalidade de reduzir-se a ocorrência de possível viés de seleção, e todas apresentando quadro de gravidade, com o intuito de reduzir a possível introdução de viés de memória relativa às informações coletadas, referentes aos fatores de riscos em leucemias pediátricas.

Os diagnósticos clínicos dos controles incluídos foram: diarréia, desnutrição, gastroenterites, asma, bronquite, pneumonia, arritmias, cardiopatias congênitas, hemangiomas, anemias ferroprivas e hemolíticas, crises convulsivas, toxoplasmose e calazar. Foram excluídos controles com diagnóstico de má formação congênita, portadores de SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e tumores malignos ou benignos devido à possível influência ambiental na formação de quaisquer tumores.

Os critérios de exclusão para a participação do estudo foram crianças com pais adotivos, mães biológicas não localizadas ou crianças cujas mães biológicas recusaram o convite à participação do estudo. Crianças portadoras de mielodisplasias ou Síndrome de Down também foram excluídas do estudo.

5.4.2 – Coleta de dados

A coleta dos dados foi por meio de entrevistas (face-a-face) com as mães de casos e controles, mediante o emprego de questionário padronizado e especificamente desenhado para obter informações sobre exposições ambientais potencialmente associadas ao processo de leucemogênese. Foram coletadas informações sobre o perfil socioeconômico da família, sobre a sua história ocupacional e a do pai, assim como os hábitos de vida e de saúde de ambos, exposições durante a gestação, tais como o uso de medicamentos e substâncias psicoativas, exposição materna a pesticidas, herbicidas e inseticidas, e obtidas informações sobre os respectivos produtos da gestação ao nascimento.

5.4.3 – Variáveis do Estudo

As características sócio-demográficas familiares foram obtidas a partir dos relatos maternos quanto às variáveis: sexo, cor da pele (em brancos e não brancos), idade da criança no momento da entrevista ou no diagnóstico, peso ao nascer (g), comprimento ao nascimento (cm), idade materna e paterna, e renda familiar (salário mínimo de referência o período de confecção do questionário). Os dados pertinentes ao consumo dos serviços de saúde materna foram coletados por meio das variáveis: tipo de parto (normal ou cesária); tipo de anestesia (raquidiana, peridural ou geral), realização de transfusão sanguínea, ultrassonografia, e radiografia.

As características relacionadas ao histórico gestacional foram obtidas relativamente ao acompanhamento pré-natal, ocorrência de abortos prévios (variável dicotômica), partos gemelares (variável dicotômica), aleitamento materno (uso ou não desta prática e período em meses); uso de fármacos durante a gestação (uso ou não fez uso); e diagnósticos na gestação de anemia, hipertensão arterial, infecção urinária ou ginecológica (presença ou ausência).

Os hábitos de vida dos pais foram coletados a partir das seguintes variáveis: consumo de drogas ilícitas durante a gestação (uso ou não fez uso), consumo materno de fumo e álcool na gestação (uso ou não fez uso no período pré-concepcional, 1º, 2º e 3º trimestre da gestação e durante a

lactação, quantidade e frequência de exposição), e tintura de cabelo e/ou alisamento materno 3 meses antes e durante a gestação e/ou amamentação (uso ou não, idem em relação a tintura de cabelo e/ou alisamento paterno 3 meses antes da gestação).

Foram consideradas exposições ambientais ou ocupacionais o contato materno ao menos uma vez nos 3 meses antes, durante a gestação e/ou amamentação. Tais exposições englobam exposições a pesticidas, herbicidas e/ou inseticidas; a poeiras (poeiras metálicas, areia, cimento, concreto, madeira, carvão, fuligem, algodão, lã e/ou fibra de vidro); a motores (motores ou máquinas movidas a gasolina, diesel, álcool, combustíveis, coque, carvão, plástico, madeira e/ou outros); a óleos (lubrificantes, fluido de corte, óleo mineral e/ou outros); a solventes (desengraxantes, aguarraz, tricloroetileno, percloroetileno e/ou outros); a tintas; a outras substâncias químicas (creosoto, asfalto ou betume, ácido clorídrico ou sulfúrico, colas e/ou outros).

Os antecedentes de história familiar de câncer (qualquer tipo de câncer), o uso de chupetas pela criança (uso ou não fez uso) e o relato sobre a presença de fumantes na residência (ao menos um morador tabagista durante a gestação) foram igualmente determinados.

5.4.4 – Análise Estatística

Para o estudo das relações inaparentes associadas à ocorrência de leucemia na infância, foram utilizadas a análise de componentes principais e a análise fatorial exploratória. O objetivo da análise fatorial é definir o relacionamento entre as variáveis de modo simples, utilizando menor número de variáveis que o número original, reduzindo a dimensionalidade de um conjunto de variáveis utilizando suas intercorrelações. Em outras palavras, procura-se observar um conjunto de variáveis não observáveis a partir de um conjunto de variáveis observáveis (Mingoti, 2005; Marchioni et al, 2005). Neste estudo, o conjunto de informações obtidas foi reduzido para 62 variáveis que foram empregadas na análise.

Os testes Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) e Bartlett foram usados para avaliar a adequação do emprego da análise fatorial considerando-se o conjunto de

dados analisados (Hair et al, 1998). O KMO é considerado adequado quando superior a 0,5 e Bartlett com a rejeição da hipótese nula.

A carga fatorial considerada foi acima de 0,3 para contribuir significativamente para o fator, após a rotação ortogonal pelo método varimax. Com o intuito de verificar a associação de cada fator com a presença de leucemia infantil foi utilizado o modelo de regressão logística não condicional, sendo obtidas as razões de chance (*odds ratios*, *OR*) com os respectivos intervalos de confiança de 95% (Hosmer & Lemeshow, 1989).

As análises estatísticas foram realizadas pelo *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 17.0.

5.5 – RESULTADOS

As análises de componentes principais e fatorial foram realizadas no conjunto de casos e controles, observando-se teste de KMO de 0,75 e o teste de esfericidade de Bartlett estatisticamente significativo (p -valor < 0,0001). A análise de componentes principais revelou que 49% do total da variância do modelo foi explicada por quatro fatores, sendo estes identificados a partir dos critérios de Kaiser e *Eigenvalue* (Tabela 1).

A rotação varimax apresentou cargas fatoriais mais elevadas no primeiro fator constituído pelas variáveis relato de tabagismo materno durante a gestação, período da gestação onde ocorreu o consumo de fumo (1º, 2º e/ou 3º trimestre da gestação); e residir com fumantes durante a gestação. Devido a natureza das variáveis compondo este fator, o qual explicou 21% da variância dos dados, ele foi denominado *condições associadas ao hábito de fumar na gravidez*.

O segundo fator, responsável por 11,4% da variância, foi composto pelas variáveis exposição materna a pesticidas, inseticidas e herbicidas; poeiras (metálicas, areia, cimento, concreto, madeira, carvão, fuligem, algodão, lã e/ou fibra de vidro); óleos (lubrificantes, fluido de corte, mineral e/ou outros); motores (ou máquinas movidas a gasolina, diesel, álcool, combustíveis, coque, carvão, plástico, madeira e/ou outros); solventes (e desengraxantes, aguarraz, tricloroetileno, percloroetileno e/ou outros); tintas; e outras substâncias

químicas (creosoto, asfalto ou betume, ácido clorídrico ou sulfúrico, colas e/ou outros), recebendo o nome de *exposição ambiental e ocupacional materna na gestação*.

O terceiro fator contabilizou 9,0% da variância e incluiu as variáveis tipo de parto (vaginal ou cesáreo) e realização de anestesia no parto, sendo denominado de *assistência obstétrica*.

O quarto fator incluído no modelo, composto pela realização de exames radiológico e ultrassonográfico, uso de drogas pela mãe e tingimento capilar materno e paterno, foi denominado como *hábitos de vida e acesso a serviços de saúde* contribuindo com 7,0% da variância do modelo.

O passo seguinte consistiu na realização da mesma análise separadamente para casos e controles. Nos casos de leucemia, o teste KMO observado foi também de 0,75, considerado adequado para análise fatorial e o de Bartlett, estatisticamente significativo (p -valor $< 0,0001$). Foram identificados três fatores que explicaram 50% da variância do conjunto de dados.

Assim como na análise do conjunto de dados, o primeiro fator foi denominado *condições associadas ao hábito de fumar na gravidez* devido a sua composição similar anteriormente mencionada, sendo explicativo de 27% do total da variância. O segundo fator foi caracterizado pela exposição materna a poeiras, óleos, motores, solventes, tintas e outras substâncias químicas, tendo explicado 14% da variância e sendo denominado de *condições associadas à exposição ambiental e ocupacional materna na gestação*.

O terceiro fator contabilizou 9,0% da variância e foi constituído pelo exame radiológico e ultrassonográfico, anestesia e tingimento capilar materno, tendo sido denominado como *hábitos de vida e acesso a serviços de saúde*.

Na análise fatorial realizada com os controles, o teste KMO observado foi de 0,79 e o de Bartlett, também estatisticamente significativo (p -valor $< 0,000$). O modelo mais explicativo, contabilizando 55% da variância, foi formado por dois fatores a partir dos critérios mencionados anteriormente.

O primeiro foi intitulado *condições associadas ao hábito de fumar na gravidez* e explicou 35% da variância do conjunto de dados e contemplou as seguintes variáveis originais: fumo durante a gestação e o consumo de fumo no 1º, 2º e 3º trimestre.

O segundo fator, responsável por 20% da variância, foi composto pela exposição materna a pesticidas, inseticidas e herbicidas; poeiras; óleos; motores; solventes; tintas; e outras substâncias químicas, recebendo o nome de *exposição ambiental e ocupacional materna na gestação*.

Tendo o intuito de determinar a magnitude de associação entre os fatores selecionados e a ocorrência de leucemias na infância, os escores obtidos com a análise fatorial para o conjunto de participantes (casos e controles) foram então empregados na modelagem com regressão logística. As razões de chance e respectivos intervalos de confiança são apresentados no modelo inicial na Tabela 2. Por não ter sido encontrados diferenças importantes (superiores a 10%), optamos por utilizar as *OR* brutas em detrimento às ajustadas.

Os resultados da análise fatorial sugeriram que os fatores obtidos caracterizavam razoavelmente a amostra analisada (cerca de 50% da variância explicada). Em cada fator foi realizada a análise univariada, sendo incluídas no modelo multivariado as que apresentaram p-valor inferior a 0,20. Tanto no fator 1 (fumo em cada trimestre da gravidez) quanto no fator 3 (parto vaginal ou cesáreo e realização de anestesia), as variáveis eram bastante correlacionadas e adotou-se a maior magnitude da carga fatorial de cada uma daquelas variáveis como critério de seleção para a modelagem multivariada, sumarizando assim o fator nas quais se incluíam. Foram incluídas então, o consumo de fumo no 2º trimestre (carga fatorial = 0,982) e parto (carga fatorial= 0,903).

Por apresentar variáveis de naturezas diferentes, todas aquelas integrantes dos fatores 2 e 4 foram eleitas para análise univariada, totalizando 14 variáveis. Dentre estas, apenas 7 (o consumo de fumo no 2º trimestre da gravidez; contato materno durante a gestação com pesticidas, solventes, tintas; radiografia; parto; e tingimento capilar materno durante a gestação) apresentaram p-valor abaixo de 0,20 na análise univariada, sendo incluídas no modelo multivariado.

Em seguida, foi realizada nova análise fatorial com as variáveis supracitadas e o modelo mais explicativo (52% da variância) constituído por

três fatores. O teste de KMO observado foi de 0,55 e o teste de esfericidade de Bartlett estatisticamente significativo ($p < 0,0001$) (Tabela 3).

A Tabela 3 apresenta as cargas fatoriais após a rotação varimax, sendo o primeiro fator constituído das seguintes variáveis: contato materno durante a gestação com pesticidas, contato materno durante a gestação com solventes e contato materno durante a gestação com tintas, explicando 19,7% da variância do modelo, sendo denominado, assim, *exposição química materna durante a gestação*.

O segundo fator, responsável por 17% da variância, composto pelo consumo de fumo no 2º trimestre e tingimento capilar materno durante a gestação, foi designado *hábitos de vida durante a gestação*.

O terceiro fator contabilizou 15% da variância e contemplou as variáveis radiografia e parto, sendo intitulado por *consumo de serviços de saúde durante a gestação*. Os componentes após a rotação varimax estão representados na figura 2.

Após a realização da análise fatorial final (Figura 2), procedeu-se o novo processo de modelagem com regressão logística, sendo as razões de chance entre os fatores identificados nesta etapa e a ocorrência de leucemias na infância apresentados na Tabela 2. Foram observadas associações estatisticamente significativas entre o desenvolvimento de leucemias na infância e as condições relacionadas ao fator denominado *exposição química materna durante a gestação* (OR=1,35, 95% IC 1,16-1,58), bem como com as condições relacionadas ao fator *consumo de serviços de saúde durante a gestação* (OR=1,27, 95% IC 1,08-1,48). Optamos pelas razões de chance brutas, visto que não se observou diferenças importantes em comparação às OR ajustadas.

5.6 – DISCUSSÃO

O modelo multivariado fatorial foi adotado neste processo, uma vez que possibilita a identificação de relações latentes entre um grande número de variáveis analisadas, possibilitando assim, a síntese de informações em um

conjunto menor de fatores e a formulação de novas perguntas de pesquisa e/ou a confirmação de concepções causais pré-existentes (Hair et al., 1998; Mingoti, 2005).

O emprego desta técnica permitiu a obtenção de um modelo explicativo de 49% da variância observada dos dados quando o método foi aplicado no conjunto de casos e controles. A análise das cargas fatoriais apontou o peso das condições relacionadas ao tabagismo, exposições ambientais e ocupacionais, parto e puerpério, e hábitos de vida e acesso a serviços de saúde.

Os resultados encontrados foram similares tanto na análise para o conjunto de participantes (casos e controles), quanto naquelas realizadas separadamente para cada um destes grupos, o que sugere uma consistência dos dados em relação à proveniência de ambos a partir de uma mesma população de estudo.

Após a identificação destes fatores, realizou-se modelagem multivariada, por meio da regressão logística não condicional, a fim de se confirmar sua contribuição na predição da ocorrência de leucemia na infância. Os resultados obtidos, entretanto, não revelaram uma contribuição substancial dos fatores neste sentido (Tabela 2, modelo inicial). Em processo de aperfeiçoamento do modelo inicial obtido, se procedeu a sua reformulação, procurando incluir numa segunda etapa aquelas variáveis que isoladamente apresentavam maior significância estatística.

Com este subconjunto de variáveis, realizaram-se novas análises multivariadas (componentes principais, fatorial exploratória e regressão logística), as quais conduziram a identificação de fatores considerados mais adequados na predição das leucemias na infância.

Os resultados encontrados na presente investigação são apoiados por relatos de outros estudos, os quais mencionam as possíveis contribuições das exposições químicas na gravidez, hábitos de vida e consumo de serviços de saúde durante a gestação, todas estas de relevância para a saúde do recém-nascido bem como no processo de carcinogênese (IARC, 1987; Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006; Shu et al., 2002; Infante-Rivard et al., 2003; Kinlen, 1995; McNally et al., 2004; Wen et al., 2002; Pang et al., 2003; Rudant et al.,

2007). Neste sentido, os resultados apresentados nesta investigação reiteram a contribuição das exposições ambientais analisadas de forma conjunta, e não apenas individualizada, no desenvolvimento das leucemias na infância.

Entre os estudos já realizados, algumas investigações norte-americanas, asiáticas e européias apontam a relevância das exposições ambientais na causalidade das leucemias na infância (Pelissari et al., 2009; Swaminathan et al., 2008; Coebergh et al., 2006). Considerando a literatura sobre a exposição a substâncias químicas, o benzeno foi reconhecido como agente leucêmico (IARC, 1987), o que não ocorreu, entretanto, com grande parte dos agentes químicos. Neste sentido, ao não identificar-se um potencial efeito carcinogênico, a exposição ocupacional e ambiental a estas substâncias químicas persiste.

Em relação à exposição às substâncias químicas contidas nas tinturas de cabelo, alguns estudos apontam o aumento no risco para câncer de mama em mulheres acima de 50 anos com estes antecedentes (Shore et al., 1979). Entretanto, uma investigação de meta-análise realizada para determinar a associação entre este tipo de exposição em ambiente não ocupacional e o desenvolvimento de neoplasias em diferentes localizações anatômicas, concluiu quanto à inexistência de elevação no risco de desenvolvimento de câncer de bexiga (10 estudos), câncer de mama (14 estudos) e neoplasias hematológicas (40 estudos) (Takkouche et al., 2005).

Em relação à exposição medicamentosa durante a gestação, um estudo caso-controle sugeriu que o uso de vitaminas e suplementos de ferro possa reduzir o risco de leucemias, enquanto que o uso de anfetaminas e pílulas dietéticas poderia aumentar o risco de leucemia na infância (Wen et al., 2005). Outro estudo caso-controle acerca das exposições maternas durante a gestação e as leucemias na infância, realizado na população brasileira, indicou aumento de 40% no risco para o desenvolvimento das leucemias na infância com antecedentes de uso de dipirona no período gestacional (Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006).

Este mesmo estudo apontou associação positiva entre o uso de pesticidas domésticos durante a gestação e discreta elevação estatisticamente significativa (18%) no risco de leucemias na infância. Em apoio a estas

observações, um estudo realizado na França comparou o uso de pesticidas entre mães de crianças portadoras de leucemias e linfomas e mães de controles, encontrando razão de chances mais elevada nas mães de casos do que nas dos controles, OR=2,2 (95% IC 1,8-2,6). Mesmo tendo realizado a estratificação segundo subtipos leucêmicos, tipos de pesticidas e período de exposição, o estudo encontrou associações positivas na maior parte das comparações. Os autores concluem que o uso doméstico de pesticidas possa contribuir para a etiologia das leucemias, e que a exposição pré-natal poderia constituir uma janela de vulnerabilidade fetal para o desenvolvimento de neoplasias hematológicas (Rudant et al., 2007).

No que tange a outras exposições químicas, como é o caso daquelas decorrentes do tabagismo, ainda existem resultados controversos na literatura. Sabe-se, entretanto, que o fumo contém diversas substâncias carcinogênicas e alguns destes compostos foram encontrados na placenta, sangue fetal, urina de recém-natos e leite materno de fumantes, sugerindo o tabagismo como um comportamento de risco para o desenvolvimento de leucemias na infância (Pang et al., 2003).

Os resultados da presente investigação sugerem que as condições relacionadas à atenção a saúde, incluindo a radiação ionizante, possam estar associadas a leucemogênese. A exposição à radiação ionizante é um fator de risco reconhecidamente associado à ocorrência de leucemias, uma vez que estudos com sobreviventes das bombas atômicas no Japão apresentaram riscos elevados de leucemia atribuídos àquela exposição (Wakeford et al., 2003).

Em relação à radiação não-ionizante, um estudo publicado por Wertheimer e Leeper (1979), sugeriu associação positiva entre a exposição a campos magnéticos de baixa frequência e leucemia em menores de 19 anos (Wertheimer & Leeper, 1979). Posteriormente, diferentes investigações foram realizadas para analisar tal associação, com resultados controversos. Entretanto, é relativamente aceito na literatura que crianças expostas a campos magnéticos da ordem de 4,0 mG ou mais, apresentam riscos elevados de desenvolverem leucemia (Kheifets et al., 2006). Desde 2002, os campos eletromagnéticos de baixa frequência são classificados pela Agência

Internacional de Pesquisa em Câncer da OMS (IARC/WHO), como possível carcinógeno humano (Kheifets et al., 2006). No presente estudo, os resultados obtidos com a metodologia multivariada adotada (análise de componentes principais) não incluíram a exposição à radiação não ionizante durante a gravidez e no período pós-natal em decorrência dos parâmetros de sua correlação estatística com as demais variáveis analisadas.

Devido à heterogeneidade no perfil genético, existem padrões distintos relacionados à capacidade individual de metabolização de carcinógenos, e conseqüentemente, na suscetibilidade individual de virem a desenvolver uma neoplasia (Pombo-de-Oliveira et al., 1986; Perera, 1996; Hunger et al., 1998; Bhatia et al., 2000; Labuda et al., 2002; Greaves, 2002). Dessa forma, além das exposições intra-uterinas e após o nascimento, diversos fatores podem estar envolvidos no processo de leucemogênese na infância.

A multiplicidade de causas associadas ao desenvolvimento das leucemias pediátricas aponta para a importância de se utilizar um modelo que combine os vários fatores relacionados ao desenvolvimento da doença, e que possibilite evidenciar as diferenças entre estes. A utilização de medidas multidimensionais que possam resumir informações dentro de um número limitado de grupos é necessária para delinear panoramas de saúde para esta população. O método utilizado permitiu sintetizar um grande número de variáveis em um quantitativo reduzido de distintos grupos, consistentes com a literatura, e possibilitando assim, a validação dos resultados obtidos. Além disso, permitiu verificar como os padrões de exposição materna durante a gravidez, tais como as condições relacionadas à exposição a diversas substâncias químicas, condições relacionadas a hábitos de vida naquele período, e condições relacionadas à atenção obstétrica se agrupam nesses indivíduos, podendo associar-se ao desenvolvimento de leucemias pediátricas.

Quanto às limitações do estudo, a ausência de estudos similares no Brasil e em outros países relativamente ao emprego da metodologia multivariada adotada, dificultou a realização de comparações com os resultados encontrados na presente investigação. Em relação aos pontos fortes deste trabalho, destaca-se o fato de que este estudo analisou um banco de dados de abrangência nacional, tendo como objeto de estudo as leucemias na

infância. Os resultados obtidos permitiram analisar conjuntamente diversos fatores associados à leucemogênese infantil, ao invés da análise tradicional da busca de associações de natureza causal com variáveis isoladas. Adicionalmente, os resultados encontrados são sugestivos quanto a sua consistência e plausibilidade biológica, uma vez que os fatores obtidos por meio da metodologia adotada (análise de componentes principais e análise fatorial) incluem variáveis descritas na literatura como associadas à leucemogênese na infância.

Os estudos futuros deveriam privilegiar a incorporação deste tipo de análise, incluindo características genéticas das mães e crianças potencialmente indicativas dos mecanismos de susceptibilidade individual no processo de carcinogênese. A definição de padrões de exposição materna durante a gravidez fornece um conjunto de informações que permite um melhor conhecimento desta população e entendimento do cenário da doença, bem como propicia subsídios para o planejamento de propostas de intervenção através de políticas públicas para a saúde infantil em geral, e o controle do câncer em particular.

5.7 – CONCLUSÕES

A partir da análise de um banco nacional com dados clínicos e epidemiológicos no Brasil, foi possível observar que condições relacionadas à exposição materna a substâncias químicas durante a gravidez, a hábitos de vida neste período, e condições relacionadas à atenção obstétrica podem associar-se ao desenvolvimento de leucemia na infância. Estes fatores explicaram, respectivamente, 20%, 17% e 15% da variância dos dados, totalizando 52% da variância associada ao desfecho analisado.

Este estudo teve como escopo gerar hipóteses acerca dos padrões de exposições ambientais que podem estar associadas às leucemias na infância, podendo direcionar medidas de prevenção em Saúde Pública para crianças da

população brasileira, sendo necessárias outras investigações realizadas com metodologias distintas.

Tabela 1 – Carga Fatorial obtida pela rotação Varimax.

Variáveis	Condições associadas ao hábito de fumar na gravidez	Exposição ambiental ou ocupacional	Assistência Obstétrica	Hábitos de Vida e Acesso a serviços de saúde
Fumo durante a gestação	0,966	- 0,049	0,006	0,038
Consumo de fumo no 1º trimestre	0,981	- 0,059	0,017	0,040
Consumo de fumo no 2º trimestre	0,982	- 0,050	0,006	0,028
Consumo de fumo no 3º trimestre	0,974	- 0,044	- 0,014	0,031
Morar com fumantes durante a gestação	0,360	0,075	- 0,136	0,248
Contato materno durante a gestação com pesticidas	- 0,053	0,384	- 0,096	0,109
Contato materno durante a gestação com poeiras	- 0,034	0,574	- 0,013	0,075
Contato materno durante a gestação com óleos	- 0,036	0,606	0,063	0,037
Contato materno durante a gestação com motores	- 0,091	0,601	0,053	- 0,277
Contato materno durante a gestação com solventes	- 0,080	0,530	0,176	0,005
Contato materno durante a gestação com outras substâncias químicas	- 0,002	0,658	0,033	- 0,057
Contato materno durante a gestação com tintas	- 0,078	0,447	- 0,031	0,122
Parto	- 0,053	0,058	0,903	0,019
Anestesia	- 0,014	0,072	0,898	0,083
Ultrassonografia	- 0,034	0,042	0,126	0,492
Radiografia	- 0,068	- 0,121	0,154	0,433
Uso de drogas materno durante a gestação	0,101	0,074	- 0,148	0,554
Tingimento capilar materno	0,124	0,085	0,033	0,474
Tingimento capilar paterno	0,056	0,028	- 0,053	0,442
% Variância Explicada	21,1	11,4	9,2	7,1
% Cumulativo	21,1	32,5	41,7	48,8

Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, 2007.

Tabela 2 – Estimativa de razões de chance (OR) para portadores de leucemias agudas na infância no Brasil segundo fatores obtidos através de análise fatorial.

Variáveis no modelo	OR bruta IC (95%)
Modelo Inicial*	
Fator <i>Condições associadas ao hábito de fumar na gravidez</i>	0,97 (0,81–1,16)
Fator <i>Exposição ambiental e ocupacional materna na gestação</i>	1,15 (0,96–1,37)
Fator <i>Assistência Obstétrica</i>	1,20 (1,0–1,44)
Fator <i>Hábitos de vida e acesso a serviços de saúde</i>	1,08 (0,90–1,30)
Modelo Final**	
Fator <i>Exposição química materna durante a gestação</i>	1,35 (1,16–1,58)
Fator <i>Hábitos de vida durante a gestação</i>	0,93 (0,79–1,10)
Fator <i>Consumo de Serviços de Saúde durante a gestação</i>	1,27 (1,08–1,48)

* Modelo inicial incluindo 4 fatores obtidos na análise fatorial inicial (62 variáveis), os quais contribuíram na explicação de 49% da variância dos dados.

** Modelo final incluindo 3 fatores obtidos na análise fatorial final (7 variáveis), os quais contribuíram na explicação de 52 % da variância dos dados .

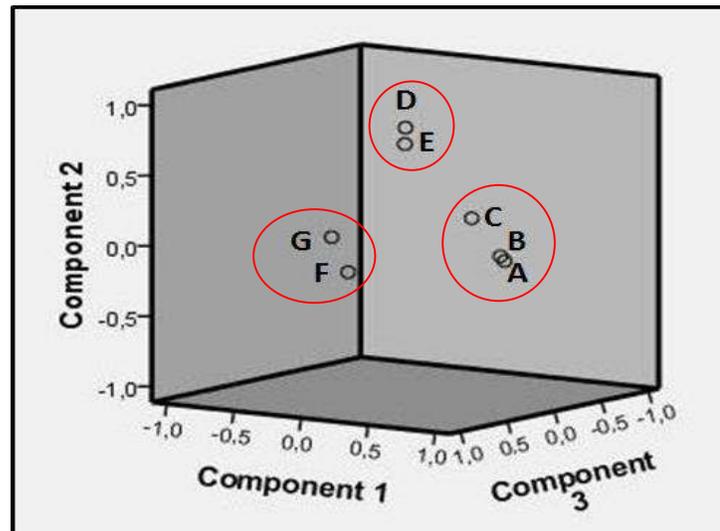
Tabela 3 – Análise fatorial obtida por rotação varimax, modelo final.

Variáveis	Fator 1 Exposição química materna durante a	Fator 2 Hábitos de vida durante a gestação	Fator 3 Consumo de Serviços de Saúde
-----------	---	--	--

	gestação	durante a gestação	
Contato materno durante a gestação com pesticidas	0,700	-0,093	-0,059
Contato materno durante a gestação com tintas	0,664	-0,064	-0,064
Contato materno durante a gestação com solventes	0,637	0,242	0,202
Consumo de fumo no 2º trimestre	-0,120	0,756	-0,173
Tingimento capilar materno	0,100	0,707	0,148
Tipo de Parto	0,094	-0,118	0,742
Realização de radiografia	-0,085	0,100	0,662
% Variância Explicada	19,7	16,7	15,5
% Cumulativo	19,7	36,5	52,0

Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distingção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, 2007.

Figura 2 – Representação espacial das relações entre fatores após rotação varimax, casos de leucemias pediátricas e controles, Brasil*



* Variáveis componentes do Fator 1: A (Contato materno com pesticidas durante a gestação), B (Contato materno com tintas durante a gestação) e C (Contato materno com solventes durante a gestação); Variáveis componentes do Fator 2: D (Consumo de fumo no 2º trimestre) e E (Tingimento capilar materno durante a gestação); Variáveis componentes do Fator 3: F (tipo de parto) e G (exposição a radiação ionizante).

5.8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BELSON, M.; KINGSLEY, B.; HOLMES, A. Risk factors for Acute Leukemia in children: A Review. *Environmental Health Perspectives*, v.115, n.1, p. 138-145, jan. 2007.
- 2- BHATIA, S.; ROSS, J. A.; GREAVES, M. F.; ROBINSON, L. L. Epidemiology and etiology. In: *Childhood Leukemias*, p. 38-49, 2000.
- 3- BRAGA, P. E.; LATORRE, M. R. D. O.; CURADO, M. P. Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em Goiânia (Brasil) e outros países. *Cad. Saúde Pública*, v. 18, n. 1, p. 33-44, 2002.
- 4- COEBERGH, J. W.; REEDIJK, A. M.; de VRIES, E.; MARTOS, C.; JAKAB, Z.; STELIAROVA FOUCHER, E.; KAMPS, W. A. Leukemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997. Reported from the Automated Childhood Cancer Information System Project. *Eur J Cancer*, v. 42, n. 13, p. 2019-2036, 2006.
- 5- DICKINSON, H. O. The Causes of Childhood Leukaemia: Delayed exposure to infection may trigger leukaemia after prenatal damage to DNA. *BMJ*, v. 330, p. 1279-1280, 2005.
- 6- GREAVES, M. Molecular genetics, natural history and the demise of childhood leukemia. *Eur J Cancer*, v. 35, n. 14, p. 1941-1953, 1999.
- 7- GREAVES, M. F. Childhood Leukemia. *BMJ*, v. 324, p. 283-287, 2002.
- 8- HAMERSCHLAK, N. Leucemia: fatores prognósticos e genética. *J. Pediatr.*, v.84, n. 4, suppl. p. S52-57, 2008.
- 9- HAIR, J. F.; TATHAM, R. L.; ANDERSON, R. E.; BLACK, W. Análise Fatorial. In: _____. (Org., 5ª ed.). *Análise Multivariada dos Dados*. São Paulo: Artmed Editora, 1998. p. 89-124.
- 10- HOSMER, D. M.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. New York, Joh Wiley and Sons, 1989.
- 11- HUNGER, S. P.; et al. Oncogenesis in utero: fetal death due to acute myelogenous leukaemia with an MLL translocation. *Br. J. Haematol.*, v. 103, n.2, p. 539-542, 1998.

- 12- IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Supplement 7: Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of *IARC Monographs* Volumes 1 to 42. 1987. Disponível em <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/suppl7/Suppl7-24.pdf>, acessado em 07/02/2010.
- 13- INFANTE-RIVARD, C., DEADMAN, J. E. Maternal Occupational Exposure to Extremely Low Frequency Magnetic Fields during Pregnancy and Childhood Leukemia. *Epidemiology*, v. 14, n. 4, p. 437-441, 2003.
- 14- KHEIFETS, L.; AFIFI, A. A.; SHIMKHADA, R. Public health impact of extremely low-frequency electromagnetic fields. *Env Health Perspect*, v. 114, n.10, p. 1532-1537, 2006.
- 15- KINLEN, L. J. Epidemiological evidence for an infective basis in childhood leukaemia. *Br J Cancer*, v. 71, n. 1, p. 1-5, 1995.
- 16- LABUDA, D.; et al. Parental genotypes in the risk of a complex disease. *Am J Hum Genet*, v. 71, n. 1, p. 193-197, 2002.
- 17- LINET, M. S.; RIES, L. A.; SMITH, M. A.; TARONE, R. E.; DEVESA, S.S. Cancer surveillance series: recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst*, v. 91, p. 1051-1058, 1999.
- 18- MCNALLY, R. J. Q.; EDEN, T. O. B. An infectious aetiology for childhood leukaemia: a review of the evidence. *Br J Haematology*, v. 127, p. 243-246, 2004.
- 19- MARCHIONI, D. M. L.; LATORRE, M. R. D. O.; ELUF-NETO, J.; WÜNSCH-FILHO, V.; FISBERG, R. M. Identification of dietary patterns using factor analysis in an epidemiological study in São Paulo. *São Paulo Med J*, v. 123, n. 3, p. 124-127, 2005.
- 20- MINGOTI, S. A. Análise Fatorial. In: _____ (Org.). *Análise de Dados através de Métodos de Estatística Multivariada: Uma abordagem aplicada*. UFMG, 2005, 99-141.
- 21- PANG, D.; MCNALLY, R.; BIRCH, J. M. Parental Smoking and Childhood Cancer: results from the United Kingdom Childhood Cancer Study. *British J. of Cancer*, v. 88, n. 3, p. 373-381, 2003.
- 22- PELISSARI, D. M.; BARBIERI, F. E.; FILHO, V. W. Magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children: a systematic review of case-control studies. *Cad. Saúde Pública*, v. 25, Sup 3, p. S441-S452, 2009.
- 23- PERERA, F. P. Molecular Epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment and prevention. *J Nat Cancer Inst*, v. 88, n. 8, p. 496-509, 1996.
- 24- POMBO-de OLIVEIRA, M. S.; et al. Lymphoblastic leukemia in Siamese Twins: evidence for identity. *Lancet*, v. 2, n. 8513, p. 969-970, 1986.
- 25- POMBO-de-OLIVEIRA, M. S.; KOIFMAN, S. Infant Acute Leukemia and Maternal Exposures during Pregnancy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 15, n. 12, p. 2336-2341, 2006.
- 26- POMBO-de-OLIVEIRA, M. S.; et al. Programa de Hematologia e Oncologia Pediátricos: Diagnóstico Imunomolecular, 2008. Disponível em www.imunomolecular.redecancer.org.br, acessado em 07/08/2010.
- 27- PUI, C. H.; SANDLUND, J. T.; PEI, D.; RIVERA, G. K.; HOWARD, S. C.; RIBEIRO, R. C.; et al. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA*, v. 290, p. 2001-2007, 2003.
- 28- REIS, R. S.; SANTOS, M. O.; THULER, L. C. S. Incidência de tumores pediátricos no Brasil. *Rev Bras de Cancerologia*, v. 53, n. 1, p. 5-15, 2007.

- 29- SHORE, R. E.; PASTERNAK, B. S.; THIESSEN, E. U.; SADOW, M.; FORBES, R.; ALBERT, R. E. A case-control study of hair dye use and breast cancer. *J Natl Cancer Inst.*, v. 62, n. 2, p. 277-83, Feb. 1979.
- 30- SHU, X. O.; POTTER, J. D.; LINET, M. S.; SEVERSON, R. K.; HAN, D.; KERSEY, J. H.; JOSEPH, P. N.; TRIGG, M. E.; ROBINSON, L. L. Diagnostic X-rays and Ultrasound Exposure and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia by Immunophenotype. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 11, p. 177-185, 2002.
- 31- SWAMINATHAN, R.; RAMA, R.; SHANTA, V. Childhood cancers in Chennai, India, 1990-2001: incidence and survival. *Int J Cancer*, v. 122, p. 2607-1611, 2008.
- 32- RUDANT, J.; MENEGAUX, F.; LEVERGER, G.; et al. Household Exposure to Pesticides and Risk of Childhood Hematopoietic Malignancies: The SCALE study (SFCE). *Environ Health Perspect*, v. 115, n. 12, p. 1787-1793, 2007.
- 33- TAKKOUICHE, B.; ETMINAN, M.; MONTES-MARTINEZ, A. Personal use of hair dyes and risk of cancer: a meta-analysis. *JAMA*, v. 293, n. 20, p. 2516-2525, 2005.
- 34- WAKEFORD, R.; LITTLE, M. P. Risk coefficients for childhood cancer after intrauterine irradiation: a review. *Int J Radiat Biol.*, v.79, n. 5, p. 293-309, 2003.
- 35- WERTHEIMER, N.; LEEPER, E. Electrical wiring configuration and childhood cancer. *Am J Epidemiol*, v. 109, p. 273-284, 1979.
- 36- WEN, W.; SHU, X. O.; POTTER, J. D.; SEVERSON, R. K.; BUCKLEY, J. D.; REAMAN, G. H.; ROBINSON, L. L. Parental Medication Use and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer*, v. 95, p. 1786-1794, 2002.

6 – 2^a PROPOSTA DE ARTIGO

GESTAÇÃO, EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS E LEUCEMIAS EM LACTENTES NO BRASIL

Jeniffer Dantas Ferreira¹, Arnaldo César Couto¹, Maria do Socorro Pombo de Oliveira², Sergio Koifman¹, Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia³.

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, ENSP, FIOCRUZ/RJ

² Divisão de Medicina Experimental, Centro de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer/RJ

³ Membros do *Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia* listados ao final

Correspondência:

Sergio Koifman
Escola Nacional de Saúde Pública
Fundação Oswaldo Cruz
Ministério da Saúde
Rua Leopoldo Bulhões 1480,

Rio de Janeiro, RJ, 21041-210
e-mail: koifman@ensp.fiocruz.br

6.1 – RESUMO

Introdução: A leucemia em lactentes consiste em uma neoplasia hematológica rara, relacionada com rearranjos do gene *MLL*. Dentre os fatores de riscos encontram-se exposições maternas durante a gestação como hormônios, dipirona e inibidores da DNA topoisomerase II, alto peso ao nascer, exposição a pesticidas, entre outros.

Objetivos: Investigar a associação entre a exposição materna a pesticidas durante o período pré-concepcional, gestacional e pós-natal, segundo a especificidade química, tipo de contato e frequência de uso e o desenvolvimento de leucemias em lactentes.

Metodologia: Trata-se de um estudo caso-controle multicêntrico de base hospitalar realizado em 15 centros diagnósticos no Brasil. Mães de 252 casos de leucemias em lactentes de idade entre 0-24 meses e de 423 controles, pareados por frequência de idade e local de residência foram entrevistadas, e os dados de exposições ambientais maternas durante os períodos pré-concepcional, gestacional e lactação, incluindo a exposição a pesticidas, foram obtidas. Foi realizada regressão logística não condicional e as *odds ratios* (OR) foram obtidas com intervalo de confiança de 95% e permitiram estimar a associação entre exposição materna a pesticidas e leucemias em lactentes, ajustadas por uso de contraceptivos orais durante a gestação, idade materna, escolaridade materna, peso ao nascer e cor de pele dos lactentes.

Resultados: A OR ajustada 2,39 (IC95% 1,63-3,51) foi observada para a associação entre leucemias em lactentes e a exposição a pesticidas durante a gestação, sendo mais elevada para LMA (OR ajustada 3,50 IC95% 2,01-6,11). O uso de piretróides durante a gestação revelou OR=2,18 (IC95% 1,44-3,29) enquanto o uso de outros pesticidas mostrou OR=3,61 (IC95% 1,69-7,73). O contato doméstico apresentou OR ajustada= 2,25 (IC95% 1,48-3,43) e na lavoura OR ajustada=9,26 (IC95% 2,82-30,38). De acordo com a frequência de exposição, foi observada OR ajustada= 2,48 (IC95% 1,5-4,00) dentre as mães que reportaram contato inferior a uma vez por semana, e OR= 2,34 (IC95% 1,3-4,21) mais de um contato semanal (p-trend < 0,0001). Foi analisada a exposição mista a diferentes compostos químicos observando OR ajustada = 3,83 (IC95% 1,33-11,03) e a exposição a distintas classes químicas OR ajustada= 8,87 (IC 95% 1,55-50,63).

Conclusão: Os resultados encontrados nesse estudo apóiam a hipótese que o uso de pesticidas domésticos e outros contaminantes podem estar associados à etiologia das leucemias em lactentes.

Palavras-chave: Leucemia infantil, exposições ambientais, pesticidas.

PREGNANCY, EXPOSURE TO PESTICIDES AND INFANT LEUKEMIA IN
BRAZIL

6.2 – ABSTRACT

Antecedents. Infant leukemia (IL) is a rare hematological neoplasia related to MLL gene rearrangements, whose risk factors seems to include some maternal exposures during pregnancy such as hormones, dipyrrone and topoisomerase DNA inhibitors, high birth weight and pesticides exposure, among others.

Objectives: To investigate the association between maternal exposure to pesticides during the pre-conception, pregnancy and postnatal period and infant leukemia, according to specific chemicals, type of contact and frequency of use.

Methodology: This is a multicenter hospital-based case-control study carried out in 15 centers in Brazil. Mothers of 252 IL cases aged 0-24 months and those of 432 age frequency matched local controls were interviewed, and data on environmental maternal exposures during pre-conception, pregnancy and breast-feeding period, including pesticides, were obtained. Unconditional logistic regression was performed and odds ratios (OR) on the association between maternal pesticides exposure and IL, including their 95% confidence intervals, were ascertained after adjustment to hormonal intake during pregnancy, maternal age, birth weight, maternal education and skin color.

Results: An adjusted OR 2.39 (95% CI 1.63 to 3.51) was observed for the association between IL and maternal exposure to pesticides during pregnancy,

being higher for AML (adjusted OR 3.50, 95%CI 2.01-6.11). . Pyrethroids use during pregnancy revealed an OR 2.18 (95% CI 1.44 -3.29), while the use of other pesticides showed an OR 3.61 (95% CI 1.69-7.73) .The reported domestic use of pesticides revealed an adjusted OR 2.25 (95% CI 1.48-3.43), and agriculture exposure showed an adjusted OR 9.26, (95% CI 2.82 -30.4). According to frequency of exposure, an adjusted OR = 2.48 (95% CI 1.50 - 4.00) was seen among those reporting up to 1 contact weekly, and an adjusted OR 2.34 (95% CI 1.30 – 4.21) among those with > 1 contact (p-trend < 0.0001). Mixed exposure to different pesticides showed an adjusted OR = 3.83 (95% CI 1.33 - 11.0), and the exposure to different chemical classes revealed an adjusted OR 8.87 (95% CI 1.55 - 50.6).

Conclusion: The results of this study seems to support the hypothesis that the maternal use of pesticides during pregnancy may be involved in the etiology of infant leukemia.

Key-words: Infant leukemia, environmental exposures, pesticides.

6.3 – INTRODUÇÃO

As evidências do uso de pesticidas no combate as pragas datam de aproximadamente 500 a.C. (McMichael, 2001), porém as observações acerca de seus efeitos à saúde são recentes. Estes dependem dos componentes químicos dos pesticidas, sendo encontrado cerca de 300 princípios ativos distribuídos em mais de 2.000 formulações (Flores et al., 2004), o qual tem aumentado continuamente no decorrer dos anos.

Estas formulações consistem em misturas complexas que incluem além da substância ativa, outros componentes como solventes, agentes umidificadores, emulsificantes e aditivos (Santos et al., 2008). Soma-se a este fato, o uso sazonal concomitante de formulações distintas na agricultura para culturas específicas, dificultando a avaliação qualitativa da exposição a uma substância em particular.

A exposição a pesticidas tem se tornado um problema de saúde pública mundial (OMS/UNEP, 1990), e no Brasil, estima-se que 3% dos agricultores experimentem anualmente episódios de intoxicação (Chrisman et al., 2009).

Contudo, além de subnotificados, esses episódios representam apenas uma pequena parcela do problema, uma vez que, o uso de pesticidas está associado à etiologia de diversas doenças crônicas, entre as quais, diversos tipos de câncer, inclusive leucemias na infância (Chrisman et al., 2009; Infant-Rivard & Weichenthal, 2007; Bassil et al., 2007; Zahm & Ward, 1998).

As leucemias da infância constituem um grupo heterogêneo e raro de doenças correspondendo a cerca de 30% dos diagnósticos de câncer na infância, sendo mais comum em menores de 15 anos (Turner et al., 2010; Belson et al., 2007; Buffler et al., 2005; Pui, 2003; Braga et al., 2002; Linet et al., 1999). O termo leucemia do lactente (IL) é usualmente aplicado quando o diagnóstico é realizado dentro dos 12 primeiros meses de vida, sendo esta faixa etária ampliada por alguns pesquisadores até 18 meses (Emerenciano et al., 2007).

As leucemias do lactente constituem a segunda doença maligna mais comum no primeiro ano de vida, subsequente ao neuroblastoma (Ross et al., 1994; Biondi et al., 2000). Em relação a sua etiologia, existem, todavia lacunas no conhecimento, tendo-se observado, entretanto, a ocorrência de um acúmulo de alterações na estrutura ou expressão de certos genes vitais devido a mutações, translocações, perdas cromossômicas, recombinações somáticas, entre outros (Perera, 1996).

Neste sentido, tais modificações podem acarretar a produção de quantidades anormais da proteína inalterada, ausência da proteína elaborada pelos genes afetados, ou síntese de produtos protéicos alterados, acarretando a desregulação no crescimento e na diferenciação celular (Santos et al., 2008). Vale ressaltar que outros fatores podem também influenciar a susceptibilidade individual à carcinogênese, entre os quais os genes de alto e baixo risco, etnia, idade, sexo, fatores nutricionais e condições de saúde (Johnson et al., 2008; Belson et al., 2007; Infant-Rivard & Weichenthal, 2007; Perera, 1996).

Os rearranjos no gene *MLL* são encontrados com frequência em leucemias secundárias, após tratamento quimioterápico com inibidores da enzima topoisomerase II (Nakada et al., 2006; Alexander et al., 2001). Por este motivo, acredita-se que a exposição química ainda *in utero* afetaria o funcionamento da enzima topo-II, sugerindo que o curto período de latência da

doença estaria associado a alteração neste gene, visto que os rearranjos são mais frequentes em menores de um ano (Emerenciano et al., 2007; Greaves, 2003).

A exposição a pesticidas é assim considerada uma das condições possivelmente associadas à carcinogênese em diversos sítios, incluindo a leucemogênese, uma vez que estas substâncias são potencialmente capazes de alterar o DNA de uma célula, ou estimular a divisão da célula alterada, atuando, respectivamente, como iniciadoras ou promotoras tumorais (Santos et al., 2008).

Acredita-se que as alterações no DNA possam ocorrer no período pré-concepcional ou durante o período gestacional, provavelmente em resposta a infecções, radiação, substâncias químicas e outras exposições ambientais (Emerenciano et al., 2007; Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006; McNally et al., 2004). Outros estudos indicam o aumento nas taxas de incidência de leucemia na infância com a exposição materna a pesticidas, ressaltando o mesmo período (Ma et al., 2002; Meinert et al., 2000; Menegaux et al., 2006; Rudant et al., 2007).

Os achados na literatura reforçam a hipótese que os pesticidas desempenham papel na leucemogênese infantil. Todavia, apesar das evidências no aumento do risco, outros estudos devem ser realizados com intuito de estabelecer associações dentre os diversos tipos de pesticidas e os subtipos leucêmicos infantis. Entre os quais, a relação da especificidade química dos pesticidas com o desenvolvimento de neoplasias.

A maioria dos estudos analisando a associação entre a exposição a pesticidas teve como foco a exposição ocupacional dos pais (Colt & Blair, 1998; Monge et al., 2005; Monge et al., 2007; Rudant et al., 2007; Perez-Saldivar et al., 2008; Wigle et al., 2009) e poucos avaliaram o uso de pesticidas domésticos no período pré-natal (Zahm & Ward, 1998; Meinert et al., 2000; LaFiura et al., 2007)

Sendo assim, este estudo tem como objetivo estudar a associação entre a exposição materna a pesticidas durante o período pré-concepcional, gestacional e durante a lactação, segundo a especificidade química, tipo de

pesticidas, tipo de contato, frequência de uso e os rearranjos do gene *MLL* e o desenvolvimento de leucemias em lactentes no Brasil.

6.4 – METODOLOGIA

6.4.1 – População de Estudo

Esta investigação faz parte de um estudo multicêntrico intitulado “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos” que tem como foco investigar os mecanismos patogênicos das leucemias agudas da infância no Brasil. Os participantes foram recrutados de hospitais do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Curitiba, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Goiás, Brasília, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba, constituindo a população analisada neste estudo com 675 participantes.

6.4.2 – Desenho de Estudo

Trata-se de um estudo caso-controle de base hospitalar, na qual os controles foram pareados por frequência de idade e local de residência com os casos de leucemia em lactentes. Os dados analisados neste trabalho foram obtidos por meio de entrevistas com mães de pacientes recrutados na rede nacional especializada na atenção a tumores onco-pediátricos e hospitais gerais.

6.4.3 – Seleção de Casos e Controles

Foram definidos como casos (n=252) as crianças na faixa etária entre 0 e 2 anos incompletos e com diagnósticos conclusivos para leucemia linfóide ou mielóide aguda, confirmados pelos métodos morfológico, imunofenotípico e citogenético-molecular (Pombo-de-Oliveira et al., 2008).

Os controles analisados (n=423) foram selecionados nos centros de origem dos casos ou hospitais gerais, pertencentes ao mesmo estrato de idade, e todos apresentando quadro de gravidade, com o intuito de reduzir a possível introdução de viés de seleção quanto às informações coletadas. Os controles selecionados apresentaram antecedentes de hospitalização por diversos estratos de grupos de causas de internação com a finalidade de reduzir-se a ocorrência de possível viés de memória, entre os quais: doenças infecciosas e parasitárias (n=124, 29,4%); doenças hematológicas (n=83, 19,6%); doenças respiratórias (n=43, 10,2%); anomalias congênitas (n=40, 9,4); doenças aparelho digestivo: (n=39, 9,2%); doenças cardiovasculares (n=25, 5,8%) e outras causas (n=69, 16,4%).

6.4.4 – Critérios de Exclusão

Casos e controles com síndromes congênitas, pais adotivos ou biológicos não localizados, bem como crianças portadoras de mielodisplasias não foram incluídos no estudo. Foram excluídos os controles com diagnóstico de tumores malignos ou benignos devido à possível influência ambiental na formação de quaisquer tumores.

6.4.5 – Coleta de dados

O questionário foi especificamente desenhado para obter informações sobre exposições ambientais potencialmente associadas ao processo de leucemogênese. Por meio da realização de entrevistas com as mães de casos e controles, mediante o emprego de questionário padronizado desenvolvido para tal fim, foram obtidas informações sobre o perfil socioeconômico da família, sobre a sua história ocupacional e a do pai, assim como os hábitos de vida e de saúde de ambos e exposições durante a gestação. Entre estas foram incluídas: o uso de medicamentos e substâncias psicoativas; exposição

materna a pesticidas, herbicidas e inseticidas; e informações sobre os respectivos produtos desde a gestação ao nascimento (Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006).

As características analisadas foram obtidas a partir dos relatos maternos sobre o sexo, idade da criança no momento da entrevista ou no diagnóstico, peso ao nascer (g), comprimento ao nascimento (cm), idade materna e renda familiar.

Foi considerada exposição a pesticidas o relato materno de contato ocorrido ao menos uma vez nos três meses que antecederam a gestação, durante a gestação, e/ou no período de amamentação. As características quanto ao contato com pesticidas foram analisadas segundo as variáveis tipo de uso (doméstico, lavoura ou não intencional); tipo de contato (direto/aplicação, materiais utilizados pelo aplicador, absorção respiratória e oral); tipo de produto (acaricida, adjuvante, bactericida, cupinicida, feromônio, formicida, fungicida, herbicida, inseticida, inseticida biológico, nematocida e regulador do crescimento); seus componentes químicos (piretróides, organofosforados, carbamatos) e a frequência de exposição (inferior ou igual a uma vez por semana e maior que uma vez durante a semana).

O uso combinado de pesticidas foi analisado através da exposição a componentes químicos misturados em um mesmo produto (carbamato, clorofosforado e piretróide) ou em mais de um; e por meio da exposição relatada a distintas classes químicas (inseticidas e herbicidas).

6.4.6 – Análise Molecular

As análises moleculares dos rearranjos do gene *MLL* foram realizadas por meio da técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e Fluorescência Hibridização *in situ* (FISH). Estas técnicas foram descritas anteriormente (Emerenciano et al., 2006)

6.4.7 – Análise Estatística

A associação entre exposição a pesticidas e leucemias agudas em lactentes foi calculada por meio da regressão logística não condicional, sendo obtidas as razões de chances (*odds ratio*, OR) com os respectivos intervalos de confiança de 95% (Hosmer & Lemeshow, 1989). A associação entre o rearranjo do gene *MLL* e as variáveis selecionadas foram analisadas utilizando o desenho caso-only, ajustada pelas variáveis mencionadas anteriormente. A significância estatística entre os grupos estudados foi calculada utilizando o teste exato de Fisher (two-sided).

A análise realizada buscou controlar o possível confundimento por variáveis selecionadas, incluindo o uso de contraceptivos orais durante a gestação, idade materna no parto, peso ao nascer e cor da pele.

A razão de chances de interação entre o uso materno de pesticidas e a ocorrência de rearranjos do gene *MLL* segundo período de exposição com os respectivos intervalos de confiança, foi determinada por meio da abordagem de estudos de casos (case-only study) (Yang et al., 1999).

Todas as análises foram realizadas por meio do *Statistical Package for Social Science* (SPSS), versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, 2008).

6.4.8 – Aspectos Éticos

O presente estudo utilizou dados primários, oriundos do projeto “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INCA sob o registro nº 005/06. A proposta de análise deste trabalho referente aos efeitos da exposição materna a pesticidas e leucemias no lactente foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fiocruz, sob o registro nº32/10.

6.5 – RESULTADOS

O estudo contou com total de 675 crianças, sendo 252 casos e 423 controles recrutados no período de 1991 a 2007. Dentre os casos, 193 (76,6%)

eram portadores de Leucemia Linfóide Aguda (LLA) e 59 (23,4%) Leucemia Mielóide Aguda (LMA).

As principais características sócio-demográficas dos participantes estão apresentadas na Tabela 1, observando-se diferenças estatisticamente significativas entre casos e controles quanto a idade materna, cor da pele, escolaridade e renda entre casos e controles. Assim, cerca de 60% das mães de casos tinham 25 anos ou mais (43% nos controles), 67% eram brancas (36% nos controles), e 58% relataram 8 anos ou mais de estudo (49% nos controles).

O uso de pesticidas, ao menos uma vez durante os períodos relacionados a gravidez analisados foi relatado por 45,2% mães dos casos e 25,3% dos controles. Foi observada uma elevação no risco de leucemia em lactentes associado a relato materno de uso de pesticidas (OR ajustada 2,30 95%IC 1,58-3,35), sendo maior no primeiro trimestre (OR ajustada 1,99 95% IC 1,30-3,05) e na lactação (OR 2,08 95% IC 1,33-3,27). No que tange os subtipos leucêmicos, a magnitude de associação mais elevada com o uso de pesticidas foi observada para LMA (OR ajustada 3,23 95%IC 1,74-5,99), sendo para LLA de OR 2,09 95%IC 1,39-3,15.

A análise entre exposição materna a pesticidas durante o período pré-concepcional e leucemias dos lactentes segundo status do gene *MLL* (tabela 3) revelou OR=2,08, 95%IC 1,06-3,92 em presença do rearranjo (*MLL*⁺), e OR=2,09, 95%IC 1,25-3,46 na ausência de rearranjo (*MLL*⁻).

As estimativas de risco decorrentes da exposição materna a pesticidas e o desenvolvimento de leucemias no lactente segundo classe química, tipo e frequência de exposição são apresentadas na Tabela 4. Foi observado uma razão de chances ajustada de 2,18, 95% IC 1,44-3,29 para a menção ao uso de piretróides e de 3,61, 95% IC 1,69-2,73 para outros pesticidas. Em relação ao tipo de exposição, aquela ocorrida no domicílio revelou uma OR ajustada de 2,25 95% IC 1,48-3,43, sendo o incremento do risco ainda maior em se tratando de uso na lavoura (OR=9,26 95%IC 2,82-30,4). Em relação à frequência de exposição, aquela relatadas como de até uma vez na semana apresentou ajustada OR de 2,48, 95% 1,02-4,03, contato superior a uma vez por semana OR ajustada = 2,34 (95%IC 1,30-4,21), embora não tenha sido

evidenciado efeito dose-resposta. Foram encontradas associações significativas entre a leucemia em lactentes e a exposição a componentes químicos misturados, apresentando OR ajustada= 3,83 (95%IC 1,33-11,03) assim como com a exposição a pesticidas de distintas classes químicas cuja OR ajustada=8,87 (95%IC 1,55-50,6).

6.6 – DISCUSSÃO

Os resultados desta investigação apontam que os riscos de leucemia no lactente foram cerca de pelo menos 2 vezes mais elevados em crianças cujas mães estiveram expostas a pesticidas na gravidez ou nos períodos pré-concepcional ou pós-natal imediato. Os resultados encontrados sugerem que a população estudada fez uso de pesticidas no período pré-concepcional, mantendo esta prática durante a gestação e a lactação. Foram observadas associações estatisticamente significativas com o desenvolvimento de leucemia em lactentes independentemente do período de exposição materna àquelas substâncias.

Os estudos epidemiológicos revelam que mais de 80% das neoplasias tem sua etiologia relacionada à interações de natureza genético-ambiental (Perera, 1996). Dentre os fatores genéticos estão a capacidade individual de metabolizar e excretar compostos potencialmente tóxicos e a eficiência no mecanismo de reparo do DNA (Santos et al., 2008).

Assim, o acúmulo de danos no DNA, acrescido dos erros espontâneos na sua replicação não corrigidos pelo sistema de reparo têm sido proposto como o mecanismo carcinogênico decorrente da exposição a pesticidas. Portanto, a habilidade de desintoxicar xenobióticos e de reparar o DNA é de fundamental importância, podendo ser considerada a primeira linha de defesa do organismo frente às exposições químicas (Raunio *et al.*, 1995; Mitrunen *et al.*, 2001).

O gene *MLL* atua como regulador positivo de expressão gênica durante o desenvolvimento embrionário e hematopoiético inicial e apresenta rearranjos com mais de 30 outros genes, o que pode acarretar em diferentes efeitos na leucemogênese infantil (Emerenciano et al., 2007).

Os resultados deste trabalho sugerem que a exposição materna a pesticidas se associa ao desenvolvimento da leucemia do lactente, independentemente da presença de rearranjos do gene *MLL*, uma vez que existe a elevação no risco e esta ocorre tanto nos portadores do rearranjo no gene (*MLL*⁺) quanto nos não portadores (*MLL*⁻). Esta hipótese é também sugerida pela análise case-only efetuada (tabela 3), onde não se observou a presença de razões de chance de interação entre o rearranjo do gene *MLL* e exposição a pesticidas maiores que a unidade.

Um estudo multicêntrico desenvolvido em diferentes países acerca dos fatores de risco para leucemias na infância, incluindo crianças brasileiras, observou estimativas elevadas de risco de rearranjos do gene *MLL* devido exposições durante a gravidez, especialmente o uso doméstico de inseticidas organofosforados (OR=9,68; 95% IC 2,11-44,40) (Alexander et al., 2001). Um resultado apontando para a mesma associação foi posteriormente observado em outro estudo brasileiro (Pombo de Oliveira et al., 2006), o qual revelou associação positiva e estatisticamente significativa entre leucemias agudas na infância e a exposição materna a pesticidas de uso doméstico (OR=2,18; 95% IC 1,53-2,13).

Os estudos realizados com populações de diferentes países apóiam os resultados obtidos na presente investigação, ressaltando a observação de associação positiva entre a exposição a pesticidas e o aumento de neoplasias hematopoiéticas em crianças, principalmente leucemias e linfomas (Zahm & Ward, 1998; Rudant et al., 2007; Menegaux et al., 2006; Pombo-de-Oliveira & Koifman, 2006; Ma et al., 2002; Meinert et al., 2000).

Um estudo francês (2007) verificou a associação entre exposição a pesticidas e leucemia na infância, procedendo a análise estratificada pelos subtipos leucêmicos e tipos de pesticidas, encontrando associações positivas na maioria dos resultados. Este mesmo estudo ressaltou ainda que o uso doméstico pode desenvolver um papel na etiologia das leucemias e que a exposição pré-natal pode constituir uma janela de vulnerabilidade fetal (Rudant et al., 2007).

Outro estudo caso-controle realizado nos EUA (Ma et al., 2002) analisou a exposição ocupacional a pesticidas e leucemias em crianças menores de 15

anos, observando OR= 2,8 (95%IC 1,4-5,7), sendo esta de 3,6 (95% IC 1,6-8,3) quando a exposição ocorreu até o segundo ano de vida. Estes resultados sugerem que os riscos seriam mais elevados quando a exposição a pesticidas acontece durante a gestação e nos primeiros anos de vida da criança (Ma et al., 2002). No presente estudo brasileiro, foi também observada uma elevação dos riscos de leucemia do lactente tanto para LLA (OR = 2,18 95% IC 1,52-3,13) como para LMA (OR = 3,50, 95% IC 2,01-6,11), os quais se apresentaram mais elevados quando a exposição a pesticidas foi relatada como tendo ocorrido no primeiro trimestre da gravidez e durante o período de lactação.

A exposição a pesticidas pode ocorrer de diversas maneiras durante a infância, seja através da contaminação por roupas de trabalhos dos pais, uso doméstico ou resíduos presentes em água, ar, solo e alimentos (Santos et al., 2008; Rudant et al., 2007; Araújo et al., 2000). Contudo, devido ao curto período de latência da doença no caso da leucemia do lactente, acredita-se que a exposição durante a vida intra-uterina desempenhe importante papel nesse processo (Pombo de Oliveira & Koifman, 2006).

Na população estudada, a exposição doméstica da mãe apresentou associação moderada com leucemia do lactente, enquanto que o uso destas substâncias químicas na lavoura apresentou uma forte associação, que pode decorrer de uma história de exposição materna precoce na sua infância e adolescência, sendo intensa e contínua durante o trabalho. A análise desta associação segundo a especificidade química da exposição reforça esta hipótese, uma vez que a maioria dos inseticidas domésticos contem substâncias piretróides, cuja associação apresentou magnitude de 2,18 95% IC 1,44-3,29. Os demais pesticidas, relacionados com a diversidade de substâncias utilizadas nas lavouras, tais como fungicidas, carbamatos, entre outros, indicaram uma magnitude de associação ainda mais elevada (OR=3,61 95%IC 1,69-7,73).

Em relação às misturas de pesticidas, foram encontradas associações positivas entre a leucemia em lactentes e a exposição a componentes químicos mesclados em um mesmo produto comercial, apresentando OR ajustada= 3,83 (95%IC 1,33-11,03), assim como com a exposição a distintas classes químicas

de pesticidas, cuja OR ajustada=8,87 (95%IC 1,55-50,63). Análises similares a estas não foram encontradas na literatura, o que sugere a necessidade de realização de outros estudos ampliando a amostragem, pois a toxicidade de exposições combinadas simultâneas é ainda desconhecida, e a análise isolada dos componentes ativos é insuficiente para avaliar o risco dos efeitos adversos dos pesticidas à saúde (Falck *et al.*, 1999). Todavia essa variável é estritamente dependente do relato materno o que pode ter dificultado a sua aferição. A duração da exposição não foi mensurada nesse estudo, logo o efeito da exposição cumulativa não foi contemplado.

A frequência de exposição apresentou aumento no risco de leucemia no lactente com a presença de efeito dose-resposta, observando-se OR ajustada=2,48 (95%IC 1,50-4,00) para a exposição relatada até 1 vez semana, e OR ajustada = 2,34 (95%IC 1,30-4,21) para 1 ou mais vezes por semana (p tendencia = 0.0001) , respectivamente.

Esta investigação apresenta algumas limitações. Como todo estudo caso-controle de base hospitalar, as comparações realizadas podem apresentar tendenciosidades introduzidas através de viés de seleção entre os grupos sob comparação. Entretanto, acreditamos que os cuidados tomados durante o processo de recrutamento de controles, tais como a multiplicidade de causas de hospitalização, a não inclusão de patologias etiologicamente associadas à exposição à pesticidas, e a escolha de hospitais gerais nos mesmos municípios de onde provinham os casos, onde poderiam ser diagnosticados enquanto casos se assim o fossem, podem em conjunto ter atenuado estas tendenciosidades, caso existentes. Adicionalmente, relatos recentes na literatura sobre o papel do viés de seleção no estudo da associação entre a exposição materna a pesticidas e o desenvolvimento de leucemias na infância sugerem que os mesmos, quando existentes, não seriam suficientes para explicar a magnitude de associação entre a exposição a pesticidas e leucemias na infância descrita na literatura (Rudant *et al.*, 2010).

Adicionalmente, as informações obtidas em estudos caso-controle como este estão igualmente sujeitas ao viés de memória existente entre as mães de casos e controles. Entretanto, a escolha de controles hospitalizados em

condições de risco de vida pode ter atenuado este tipo de viés na população estudada.

A intensidade e duração da ação tóxica das substâncias químicas são influenciadas pela maneira como o composto é absorvido no organismo (Oliveira et al., 2007), sendo relevante a análise da respectiva via de absorção e o tipo de proteção utilizado. Embora as informações sobre estes tópicos constassem no questionário adotado, sobretudo quanto as variáveis uso de equipamentos de proteção e tipo de contato, estas não foram analisadas na nossa população de estudo devido à elevada frequência de não respostas.

Por outro lado, o presente estudo apresenta pontos fortes a serem ressaltados. Trata-se de um estudo de base nacional no qual as diferentes regiões geográficas, que com exceção da Amazônia, estiveram representadas. Em que pese tratar-se de uma doença rara e internacionalmente pouco estudada, a amostra analisada de casos e controles permitiu, com os resultados obtidos, ampliar o conhecimento sobre a contribuição da exposição materna a pesticidas no desenvolvimento de leucemias no lactente. A investigação possibilitou a obtenção de estimativas de risco estatisticamente significativas quanto a natureza da exposição, a frequência e os períodos mais relevantes de exposição, seu papel na história natural das duas principais apresentações da doença, a LLA e a LMA. Adicionalmente, foram obtidas estimativas de risco igualmente estatisticamente significativas relativas a associação com a presença e ausência de rearranjos no gene MLL, a contribuição das diferentes classes químicas de pesticidas, ao local da utilização, seja na agricultura ou no domicílio, e o papel atribuído ao uso simultâneo de vários destes compostos.

Neste sentido, a investigação parece acrescentar informações substantivas sobre o papel da exposição materna a pesticidas na gravidez e nos períodos a ela imediatamente antecedente e subsequente para o desenvolvimento da leucemia do lactente.

As perspectivas de desdobramento neste campo de investigação passam a residir na exploração dos mecanismos genéticos e moleculares que caracterizam a susceptibilidade individual a este tipo de exposição precoce no desenvolvimento da leucemia do lactente. Por outro lado, a consistência dos

resultados observados, somada a de outros estudos similares em populações e períodos distintos, suscita a necessidade de sua divulgação junto a população em geral, e as mulheres em idade reprodutiva em particular, quanto a prevenção no uso de pesticidas durante a gestação e períodos próximos.

6.7 – CONCLUSÕES

Os resultados encontrados nesse estudo apóiam a hipótese que a exposição materna a pesticidas na gravidez, no período pré-concepcional e na lactação pode associar-se à etiologia das leucemias em lactentes, aumentando este risco em cerca de 2-3 vezes comparativamente com as mães que relatam ausência deste tipo de exposição, e evidenciando aqueles períodos como de vulnerabilidade biológica na história natural daquela neoplasia na faixa etária considerada.

Tabela 1- Distribuição de variáveis sócio-demográficas selecionadas, casos de leucemia do lactente e controles, Brasil, 1991-2007

	Casos (n= 252), N (%)	Controles (n=423), N (%)	p-valor
Sexo			
Masculino	130 (51,6)	226 (53,4)	0,643
Feminino	122 (48,4)	197 (46,6)	
Peso ao nascer			
<4000g	234 (92,8)	393 (93,0)	0,470
≥ 4000g	16 (6,2)	21 (5,0)	
Grupo Étnico			
Branco	170 (67,5)	153 (36,2)	0,000
Não Brancos	77 (30,5)	256 (60,5)	
Região de nascimento			
Nordeste	52 (20,6)	101 (24,1)	0,552
Centro-oeste	18 (7,1)	31 (7,3)	
Sudeste	155 (61,5)	237 (56,0)	
Sul	27 (10,7)	53 (12,5)	

Idade Materna*			
<18 anos	8 (3,2)	60 (14,1)	0,000
18-24 anos	91 (36,1)	182 (42,9)	
25-34 anos	117 (46,4)	145 (34,2)	
>35 anos	36 (14,3)	36 (8,8)	
Escolaridade Materna			
<8 anos	81 (32,1)	206 (48,6)	0,000
≥8 anos	146 (57,9)	209 (49,4)	
Renda Familiar**			
≤350	74 (29,4)	148 (35,0)	0,000
351-1750	102 (40,5)	218 (51,5)	
1751-3500	27 (10,7)	11 (3,0)	
≥3500	12 (5,0)	3 (0,7)	

* Idade materna no momento do parto. ** em Reais.

Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, 2007.

Tabela 2 – Uso materno de pesticidas segundo período de exposição, casos de leucemia em lactentes e controles, Brasil, 1991-2007

Uso de Pesticidas	Casos (n=252), n(%)	Controles (n=423), n (%)	OR (IC 95%)	OR ajust* (IC 95%)	LLA vs controles OR (IC95%)	LLA vs Controles OR ajust* (IC95%)
Não fez uso	138 (54,8)	316 (74,7)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	114 (45,2)	107 (25,3)	2,44 (1,75-3,40)	2,30 (1,58-3,35)	2,18 (1,52-3,13)	2,09 (1,39-3,15)
Pré-concepcional**						
Não fez uso	159 (69,7)	345 (83,5)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	69 (30,3)	68 (16,5)	2,20 (1,50-3,23)	2,46 (1,61-3,74)	1,99 (1,32-3,03)	2,34 (1,48-3,69)
1º Trimestre						
Não fez uso	164 (71,9)	346 (83,8)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	64 (28,1)	67 (16,2)	2,01 (1,36-2,98)	1,99 (1,30-3,05)	1,98 (1,30-3,01)	2,03 (1,28-3,22)
2º Trimestre						
Não fez uso	168 (73,7)	347 (83,8)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	60 (26,3)	67 (16,2)	1,85 (1,25-2,74)	1,82 (1,18-2,80)	1,77 (1,15-2,71)	1,82 (1,14-2,90)
3º Trimestre						
Não fez uso	168 (73,7)	341 (82,6)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	60 (26,3)	72 (17,4)	1,69 (1,15-2,50)	1,72 (1,13-2,63)	1,57 (1,02-2,40)	1,67 (1,05-2,66)
Lactação***						
Não fez uso	172 (75,4)	357 (86,7)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	56 (24,6)	55 (13,3)	2,11 (1,40-3,20)	2,08 (1,33-3,27)	1,90 (1,21-2,98)	1,98 (1,21-3,25)

* OR ajustada por uso de contraceptivos orais na gestação, idade materna no parto, escolaridade materna, peso ao nascer e cor de pele dos lactentes. ** 3 meses antes do parto. *** 3 meses após o parto.

Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distingção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, 2007.

Tabela 3 – Uso materno de pesticidas segundo período de exposição, casos de leucemia em lactentes (status MLL) e controles, Brasil, 1991-2007

Uso de Pesticidas	MLL ⁺ (n=70), n(%)	MLL ⁻ (n=119), n (%)	Controles (n=423), n(%)	MLL ⁺ vs controles (IC95%)	MLL ⁺ vs controles OR ajustada* (IC95%)	MLL ⁻ vs controles (IC 95%)	MLL ⁻ vs controles (IC 95%)
Não fez uso	39 (55,7)	69 (58,0)	316 (74,7)	2,35 (1,34-4,07)	2,11 (1,18-3,79)	2,14 (1,36-3,34)	2,14 (1,36-3,34)
Fez uso	31 (44,3)	50 (42,0)	107 (25,3)				
Pré-concepcional**							
Não fez uso	44 (62,9)	80 (67,2)	345 (83,5)	2,08 (1,06-3,92)	2,24 (1,18-4,27)	2,09 (1,25-3,46)	2,09 (1,25-3,46)
Fez uso	18 (25,7)	33 (27,7)	68 (16,5)				
1º Trimestre							
Não fez uso	48 (68,6)	82 (68,9)	346 (83,8)	1,51 (0,72-2,97)	1,52 (0,77-3,00)	1,95 (1,15-3,26)	1,95 (1,15-3,26)
Fez uso	14 (20,0)	31 (26,1)	67 (16,2)				
2º Trimestre							

Não fez uso	46 (65,7)	85 (71,4)	347 (83,8)	1,80 (0,90-3,47)	1,77 (0,92-3,41)	1,71 (0,99-2,88)	1,9
Fez uso	16 (22,9)	28 (23,5)	67 (16,2)				
3º Trimestre							
Não fez uso	47 (67,1)	83 (69,7)	341 (82,6)	1,51 (0,74- 2,93)	1,54 (0,80-3,00)	1,71 (1,01-2,85)	1,9
Fez uso	15 (21,4)	30 (25,2)	72 (17,4)				
Lactação***							
Não fez uso	49 (70,0)	84 (70,6)	357 (86,7)	1,72 (0,80-3,48)	1,73 (0,85-3,49)	2,24 (1,29-3,82)	2,6
Fez uso	13 (18,6)	29 (24,4)	55 (13,3)				

* OR ajustada por uso de contraceptivos orais na gestação, idade materna no parto, peso ao nascer, cor de pele e escolaridade materna. ** 3 meses antes da gestação. *** 3 meses após o parto.

Fonte: Dados obtidos por meio do "Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos", 2007.

Tabela 4 - Uso materno de pesticidas (classe química, frequência e tipo de utilização) segundo período de exposição, casos de leucemia em lactentes e controles, Brasil, 1991-2007

	Todas IL (n=252), n (%)	LLA (n=193), n (%)	LMA (n=59), n (%)	Controles (n=423), n (%)	Todas IL OR bruta (IC 95%)	Todas IL OR ajust* (IC 95%)	LLA vs controles OR (IC95%)	LLA vs Controles OR ajust
Especificidade química dos pesticidas								
Não fez uso	138 (54,8)	111 (57,5)	27 (45,8)	316 (74,7)	1,00	1,00	1,00	1,00
Piretróides	88 (34,9)	63 (32,6)	25 (42,4)	89 (21,0)	2,26 (1,59-3,23)	2,18 (1,44-3,29)	2,02 (1,34-3,02)	1,80 (1,11-2,93)
Outros Pesticidas	26 (10,3)	19 (9,8)	7 (11,9)	18 (4,3)	3,31 (1,76-6,23)	3,61 (1,69-7,73)	3,01 (1,43-6,30)	4,02 (2,11-7,70)
Tipo de uso								
Não fez uso	138 (56,8)	111 (59,4)	27 (48,2)	316 (76,9)	1,00	1,00	1,00	1,00
Acidental	4 (1,2)	4 (2,1)	0 (0,00)	5 (1,2)	1,83 (0,48-6,93)	1,46 (0,23-9,23)	2,28 (0,44-10,77)	2,26 (0,44-11,88)
Doméstico	85 (35,0)	60 (32,1)	25 (44,6)	84 (20,4)	2,32 (1,61-3,33)	2,25 (1,48-3,43)	2,03 (1,34-3,07)	1,97 (1,11-3,46)
Lavoura	16 (6,6)	12 (6,4)	4 (7,1)	6 (1,5)	6,11 (2,34-15,94)	9,26 (2,82-30,38)	5,69 (1,91-18,86)	10,06 (4,11-25,00)
Frequência								
Nenhuma	143 (63,6)	114 (65,5)	29 (56,9)	319 (79,9)	1,00	1,00	1,00	1,00
Até 1x/semana	52 (23,1)	38 (21,8)	14 (27,5)	46 (11,5)	2,52 (1,58-4,03)	2,48 (1,50-4,00)	2,31 (1,38-3,83)	2,13 (1,11-3,73)
> 1x/semana	30 (13,3)	22 (12,7)	8 (15,7)	34 (8,5)	1,97 (1,12-3,45)	2,34 (1,30-4,21)	1,81 (0,96-3,34)	1,97 (0,96-3,99)
					p trend = 0,0001		p trend = 0,0016	
Exposição a comp. químicos misturados***								
Não fez uso	238 (94,4)	183 (94,8)	55 (93,2)	414 (97,9)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	14 (5,6)	10 (5,2)	4 (6,8)	9 (2,1)	2,71 (1,07-7,19)	3,83 (1,33-11,03)	2,51 (1,01-6,29)	5,22 (1,81-15,00)
Exposição a distintas classes químicas****								
Não fez uso	244 (96,8)	186 (96,4)	58 (98,3)	420 (99,3)	1,00	1,00	1,00	1,00
Fez uso	8 (3,2)	7 (3,6)	1 (1,7)	3 (0,7)	4,59 (1,09-27,05)	8,87 (1,55-50,63)	5,27 (1,35-20,6)	18,34 (2,81-118,00)

* OR ajustada por uso de contraceptivos orais na gestação, idade materna no parto, aleitamento materno, peso ao nascer, cor de pele e escolaridade materna. ** Exceto piretróides.

*** Exposição a mais de um componente químico em um mesmo produto ou produtos distintos. **** Exposição a tipos diferentes de pesticidas (inseticidas, acaricidas, herbicidas, etc).

Fonte: Dados obtidos por meio do "Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos", 2007.

6.7 – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEXANDER, F. E.; PATHEAL, S. L.; BIONDI, A.; BRANDALISE, S.; CABRERA, M. E.; CHAN, L. C.; CHEN, Z.; CIMINO, G.; CORDOBA, J. C.; GU, L. J.; HUSSEIN, H.; ISHII, E.; KAMEL, A. M.; LABRA, S; MAGALHAES, I. Q.; MIZUTANI, S.; PETRIDOU, E.; OLIVEIRA, M. P.; YUEN, P.; WIEMELS, J. L.; GREAVES, M. F. Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with MILL gene fusion. *Cancer Research*, v. 61, n. 6, p. 2542-2546, 2001.
2. ARAÚJO, A. C.; NOGUEIRA, D. P.; AUGUSTO, L. G. Pesticide impact on health: a study of tomato cultivation. *Rev. de Saúde Pública*, v. 34, n. 3, p. 309-313, 2000.
3. BASSIL, K. L.; VAKIL, C.; SANBORN, N.; COLE, D. C.; KAUR, J. S.; KERR, K. J. Cancer Health Effects of Pesticides: Systematic Review. *Can Fam Physician*, v. 53, p. 1704-1711, 2007.
4. BELSON, M.; KINGSLEY, B.; HOLMES, A. Risk factors for Acute Leukemia in children: A Review. *Environmental Health Perspectives*, v.115, n.1, p. 138-145, jan. 2007.
5. BIONDI, A.; CIMINO, G.; PIETERS, R.; PUI, C. H. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood*, v. 96, p. 24-33, 2000.
6. BRAGA, P. E. Câncer na infância: tendências e análise de sobrevida em Goiânia (1989-1996). Dissertação de Mestrado. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, USP; 2000.
7. BRAGA, P. E.; LATORRE, M. R. D. O.; CURADO, M. P. Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em Goiânia (Brasil) e outros países. *Cad. Saúde Pública*,; v. 18, n. 1, p. 33-44, 2002.
8. BUFFLER, P. A.; KWAN, M. L.; REYNOLDS, P.; URAYAMA, K. Y. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. *Cancer Invest*, v. 23, p. 60–75, 2005.
9. CHRISMAN, J. R.; KOIFMAN, S.; SARCINELLI, P. N.; MOREIRA, J. C.; KOIFMAN, R. J.; MEYER, A. Pesticides sales and adult male cancer mortality in Brazil. *Int. J. Hyg. Environ. Healthy*, v. 212, p. 310-21, 2009.
10. COLT, J. S.; BLAIR, A. Parental Exposures and Risk of Childhood Cancer. *Environ Health Pers.*, v. 106, n. 3, p. 909-25, 1998.
11. EMERENCIANO, M.; AGUDELO ARIAS, D. P.; COSER, V. M.; De BRITO, G. D.; MACEDO SILVA, M. L.; POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S.; Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia. Molecular cytogenetic findings of acute leukemia included in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant acute leukemia. *Pediatric Blood Cancer*, v. 47, p. 549-554, 2006.
12. EMERENCIANO, M.; KOIFMAN, S.; POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S. Acute Leukemia in early childhood. *Braz J Med Biol Res*, v. 40, n. 6, p. 749-60, 2007.
13. FALCK, G. C.; HIRVONEN, A.; SCARPATO, R.; SAARIKOSKI, S. T.; MIGLIORE, L.; NORPPA, H. Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism for GSTM1, GSTT1 and NAT2 in pesticide-exposed greenhouse workers. *Mutation Research*, v. 441, n. 2, p. 225-37,1999.
14. FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: um problema de Saúde Pública. *Amb e Soc.*, n. 2, p. 111-125, 2004.
15. HOSMER, D. M.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. New York, Joh Wiley and Sons, 1989.
16. INFANTE-RIVARD, C.; WEICENTHAL, S. Pesticides and childhood cancer: an update of Zahm and Ward's 1998 review. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, v. 10, p. 81-99, 2007.

17. JOHNSON, K. J.; SOLER, J. T.; PUUMALA, S. E.; ROSS, J. A.; SPECTOR, L. G. Parental and infant characteristics and childhood leukemia in Minnesota. *BMC Ped.*, v. 8, n.7, p. 2008.
18. LAFIURA, K. M.; BIELAWSKI, D. M.; POSECION, N. C. Jr.; OSTREA E. M. Jr.; MATHERLY, L. H.; TAUB, J. W., et al. Association between prenatal pesticide exposures and the generation of leukemia-associated t(8;21). *Pediatr Blood Cancer*, v. 49, p. 624–628, 2007.
19. LA VECCHIA, C.; LEVI, F.; LUCCHINI, F.; LAGIOU, P.; TRICHOPOULOS, D.; NEGRI, E. Trends in childhood cancer mortality as indicators of the quality of medical care in the developed world. *Cancer*, v. 83, p. 2223-2227, 1998.
20. LINET, M. S.; RIES, L. A.; SMITH, M. A.; TARONE, R. E.; DEVESA, S. S. Cancer surveillance series: recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst*, v. 91, p. 1051-8, 1999.
21. MA, X.; BUFFLER, P. A.; GUNIER, R. B.; DAHL, G.; SMITH, M. T.; RENIER, K.; et al. Critical windows of exposure to household pesticides and risk of acute leukemia. *Environ Health Perspect*, v. 110, p. 955-60, 2002.
22. McMICHAEL, A. J. *Human frontiers, environments and diseases – past patterns, uncertain futures*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001. 365 p.
23. McNALLY, R. J. Q.; EDEN, T. O. B. An infectious aetiology for childhood leukaemia: a review of the evidence. *Br J Haematology*, v. 127, p. 243-6, 2004.
24. MEINERT, R.; SCHÜZ, J.; KALETSCH, U.; KAATSCH, P.; MICHAELIS, J. Leukemia and Non-Hodgking's Lymphoma in Childhood and Exposure to Pesticides: Results of a registrar-based Case-control Study in Germany. *Am J Epidemiol.*, v. 151, n. 7, p. 639-46, 2000.
25. MENEGAUX, F.; BARUCHEL, A.; BERTRAND, Y.; LESCOEUR, B.; LEVEGER, G.; NELKEN, B.; SOMMELET, D.; HÉMON, D.; CLAVEL, J. Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. *Occup Environ Med*, v. 63, p. 131-134, 2006.
26. MITRUNEN, K.; JOURENKOVA, N.; KATAJA, V.; ESKELINEN, M.; KOSMA, V. M.; BENHAMOU, S.; VAINIO, H.; UUSITUPA, M.; HIRVONEN, A. Glutathione Stransferase M1, M3, P1, and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention*. v. 10, n. 3, p. 229 - 236, 2001.
27. MONGE, P.; WESSELING, C.; GUARDADO, J.; LUNDBERG, I.; AHLBOM, A.; CANTOR, K. P.; et al. Parental occupational exposure to pesticides and the risk of childhood leukemia in Costa Rica. *Scand J Work Environ Health*, v. 33, p. 293–303, 2007.
28. MONGE, P.; PARTANEN, T.; WESSELING, C.; BRAVO, V.; RUEPERT, C.; BURSTYN, I. Assessment of Pesticides Exposure in the Agrigultural Population of Costa Rica. *Am. Occup. Hyg.*, v. 49, n. 5, p. 375-84, 2009.
29. NAKADA, S.; KATSUKI, Y.; IMOTO, I.; YOKOYAMA, T.; NAGASAWA, M.; INAZAWA, J.; MIZUTANI, S. Early G2/M checkpoint failure as a molecular mechanism underlying etoposide-induced chromosomal aberrations. *J. Clin. Invest.* v. 116, p. 80–89, 2006.
30. OLIVEIRA, P. A.; COLAÇO, A.; CHAVES, R.; GUEDES-PINTO, H.; DE-LA-CRUZ, P. L. F.; LOPES, C. Chemical carcinogenesis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. v. 79, n. 4, p. 593 - 616, 2007.
31. PERERA, F. P. Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment, and prevention. *J Nat Cancer Inst.*, v. 88, n. 8, p. 496-509, 1996.
32. PEREZ-SALDIVAR, M. L.; ORTEGA-ALVAREZ, M. C.; FAJARDO-GUTIERREZ, A.; BERNALDEZ-RIOS, R.; DEL CAMPO-MARTINEZ M. de L.; MEDINA-SANSON, A.; et al. Father's

- occupational exposure to carcinogenic agents and childhood acute leukemia: a new method to assess exposure (a case-control study). *BMC Cancer*, v. 8, n. 7, 2008. doi:10.1186/1471-2407-8-7 [Online 18 setembro de 2010].
33. POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S.; et al. *Leucemias Infantis: Abordagem Imuno-molecular no Diagnóstico e nas Pesquisas*. MS, Instituto Nacional do Câncer, Rio de Janeiro, 2008.
 34. POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S.; KOIFMAN, S. Infant Acute Leukemia and Maternal Exposures during Pregnancy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 15, n. 12, p. 2336-2341, 2006.
 35. PUI, C. H.; SANDLUND, J. T.; PEI, D.; RIVERA, G. K.; HOWARD, S. C.; RIBEIRO, R. C.; et al. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA*, v. 290, p.2001-2007, 2003.
 36. RAUNIO, H.; HUSGAFVEL-PURSIAINEN, K.; ANTTILA, S.; HIETANEN, E.; HIRVONEN, A.; PELKONEN, O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility - a review. *Gene*. v. 159, p. 113 - 121, 1995.
 37. ROSS, J. A.; DAVIES, S. M.; POTTER, J. D.; ROBISON, L. L. Epidemiology of childhood leukemia, with a focus on infants. *Epidemiol Rev.*, v. 16, p. 243-272, 1994.
 38. RUDANT, J.; MENEGAUX, F.; LEVERGER, G.; et al. Household Exposure to Pesticides and Risk of Childhood Hematopoietic Malignancies: The SCALE study (SFCE). *Environ Health Perspect.*, v.115, n. 12, p. 1787-1793, 2007.
 39. RUDANT, J.; CLAVEL, J.; INFANT-RIVARD, C. Selection bias in case-control studies in household exposure to pesticides and childhood acute leukemia. *J Expo Sci Environ Epidemiol.*, v.20, n.4, p.299-309, jun. 2010.
 40. SANTOS, S. S.; SILVA, I. F.; KOIFMAN, R. J.; HATAGIMA, A.; KOIFMAN, S. Exposição a Substâncias Químicas e Câncer: Aspectos Epidemiológicos, Genéticos e Moleculares. *Cad. Saúde Colet.*, v. 16, n. 4, p. 613-658, 2008.
 41. TURNER, M. C.; WIGLE, D. T.; KREWSKI, D. Residential pesticides and Childhood Leukemia: A systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect*, v.118, n.1, p. 33-41, 2010.
 42. WHO/UNEP – World Health Organization/United Nations Environment Programme, 1990. Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture, Geneva, 1990.
 43. WIGLE, D. T.; TURNER, M. C.; KREWSKI, D. A Systematic Review and Meta-Analysis of Childhood Leukemia and Parental Occupational Pesticide Exposure. *Environ Health Perspect.*, v. 117, n. 10, p. 1505-1513, 2009.
 44. YANG, Q.; KHOURY, M. J.; SUN, F.; FLANDERS, W. D. Case-only design to measure gene-gene interaction. *Epidemiol.*, v. 10, n. 2, p.167-170, 1999.
 45. ZAHM, S. H.; WARD, M. H. Pesticides and childhood cancer. *Environ Health Perspect*, v. 106, suppl 3, p. 893-908, 1998.

7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leucemia constitui um grupo de doenças raras no que diz respeito às manifestações clínicas, ao diagnóstico e ao tratamento. Embora seja rara, a incidência é considerada elevada dentre as neoplasias, principalmente as que acometem menores de 15 anos.

A taxa de incidência varia entre sexo, faixa etária e grupo étnico. Tem-se observado ainda diferenças nas taxas entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, sugerindo aumento na incidência em localidades de nível sócio-econômico mais elevado. Diversos fatores podem estar relacionados, dentre os quais a falta de registro de câncer e a notificação dos casos, e fatores diagnósticos, nutricionais, ambientais e genéticos.

Em países desenvolvidos tem-se observado uma queda nas taxas de mortalidade relacionadas à leucemia na infância desde a década de 70. No Brasil, o declínio também vem sendo observado em algumas cidades como Goiânia e Rio de Janeiro (capital), o que indica a melhora nos métodos diagnósticos e o tratamento precoce.

As alterações genéticas frequentemente encontradas em células blásticas, como as fusões, deleções e translocações, subsidiam a distinção dentre os subtipos leucêmicos. Assim, optamos por investigar a associação dos rearranjos do gene *MLL* com a exposição materna a pesticidas e o desenvolvimento das leucemias em lactentes. Uma vez que acreditamos na etiologia multifatorial das leucemias, não existindo apenas uma causa para todos os subtipos leucêmicos.

O processo de leucemogênese pode ser resultante da constituição genética combinada com as exposições genotóxicas e, conseqüentemente, a capacidade de detoxificação de substâncias e o reparo de DNA adequado de cada indivíduo.

Tais exposições ainda durante o período pré-concepcional e gestacional, como a exposição materna aos pesticidas, podem culminar nas alterações gênicas constituindo o primeiro “golpe”, iniciando o clone pré-leucêmico. E,

exposições tardias, como as infecções, podem desregular o sistema imune, acarretando as leucemias.

No presente estudo foi realizada a investigação dos fatores ambientais e individuais relacionados às exposições maternas durante a gestação e o desenvolvimento de leucemias agudas infantis na população brasileira no período de 1991 a 2007.

Diante dos objetivos propostos e dos resultados obtidos, foram inferidas as seguintes conclusões:

A frequência de distribuição do gene *MLL* (Mixed Lineage Leukemia) encontrada na população de estudo de lactentes foi de 70 (27,8%) genes rearranjados e 119 (47,2%) não-rearranjados em casos de leucemia. Por se tratar de um estudo desenvolvido a partir de informações oriundas de um banco nacional, não foi possível estimar a frequência dos controles e demais casos, visto que tais dados ainda não estavam disponíveis.

Os resultados encontrados na presente investigação sugerem que a exposição materna a pesticidas se associa ao desenvolvimento da leucemia do lactente, independentemente da presença de rearranjos do gene *MLL*, uma vez que existe a elevação no risco e esta ocorre tanto nos portadores do rearranjo no gene (*MLL*⁺) quanto nos não portadores (*MLL*⁻). Entretanto, vale ressaltar que o rearranjo do gene *MLL* é considerado um marcador para a leucemia em lactentes, não tendo sido encontrada a modificação do efeito na presença do rearranjo do gene em nossa população de estudo.

Apóiam ainda as possíveis contribuições das exposições químicas na gravidez, principalmente à pesticidas, e dos hábitos de vida e consumo de serviços de saúde durante a gestação relacionados ao processo de leucemogênese infantil.

Sendo assim, ensejamos que o presente estudo venha contribuir para a Saúde Pública de modo a direcionar estratégias públicas de prevenção para a população brasileira, visto que aprofunda o conhecimento acerca das interações genético-ambientais. Desse modo, ressaltamos a importância da saúde e dos cuidados maternos ainda na gestação, no que tange as exposições que podem culminar no desenvolvimento das leucemias na infância.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALEXANDER, F. E.; PATHEAL, S. L.; BIONDI, A.; BRANDALISE, S.; CABRERA, M. E.; CHAN, L. C.; CHEN, Z.; CIMINO, G.; CORDOBA, J. C.; GU, L. J.; HUSSEIN, H.; ISHII, E.; KAMEL, A. M.; LABRA, S.; MAGALHAES, I. Q.; MIZUTANI, S.; PETRIDOU, E.; OLIVEIRA, M. P.; YUEN, P.; WIEMELS, J. L.; GREAVES, M. F. Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with *MILL* gene fusion. *Cancer Research*, v. 61, n. 6, p. 2542-2546, 2001.
- 2- ALFRED, G.; KNUDSON, J. R. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc Nat Acad Sci USA*, v. 68, n. 4, p. 820-823, 1971.
- 3- BASSIL, K. L.; VAKIL, C.; SANBORN, N.; COLE, D. C.; KAUR, J. S.; KERR, K. J. Cancer Health Effects of Pesticides: Systematic Review. *Can Fam Physician*, v. 53, p. 1704-1711, 2007.
- 4- BELSON, M.; KINGSLEY, B.; HOLMES, A. Risk factors for Acute Leukemia in children: A Review. *Environmental Health Perspectives*, v.115, n.1, p. 138-145, jan. 2007.
- 5- BÉNÉ, M. C.; BERNIER, M.; CASTOLDI, G.; FAURE, G. C.; KNAPP, W.; LUDWIG, W. D.; MATUTES, E.; ORFAO, A.; VEER, M. Impact of Immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica*, v. 84, p. 1024-1034, 1999.
- 6- BHATIA, S.; ROSS, J. A.; GREAVES, M. F.; ROBINSON, L. L. Epidemiology and etiology. In: *Childhood Leukemias*, p. 38-49, 2000.
- 7- BRAGA, P. E.; LATORRE, M. R. D. O.; CURADO, M. P. Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em Goiânia (Brasil) e outros países. *Cad. Saúde Pública*, v. 18, n. 1, p. 33-44, 2002.
- 8- BUFFLER, P. A.; KWAN, M. L.; REYNOLDS, P.; URAYAMA, K. Y. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. *Cancer Invest*, v. 23, p. 60–75, 2005.
- 9- COEBERGH, J. W.; REEDIJK, A. M.; de VRIES, E.; MARTOS, C.; JAKAB, Z.; STELIAROVA FOUCHER, E.; KAMPS, W. A. Leukemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997. Reported from the Automated Childhood Cancer Information System Project. *Eur J Cancer*, v. 42, n. 13, p. 2019-2036, 2006.
- 10- EDGAR, K.; MORGAN, A. *Does Infection Cause or Prevent Childhood Leukaemia? A review of the scientific evidence.* p. 24-26, 2008.
- 11- EMERENCIANO, M.; KOIFMAN, S.; POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S. Acute Leukemia in early childhood. *Braz J Med Biol Res*, v. 40, n. 6, p. 749-60, 2007.
- 12- FERLAY, J.; BRAY, F.; PISANI, P.; PARKIN, D. M. *Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide.* Lyon: IARC Press; (IARC Cancer Base, 5), 2004.
- 13- GALE, K. B.; FORD, A. M.; REPP, R.; BORKHARDT, A.; KELLER, C.; EDEN, O. B.; et al. Backtracking leukemia to birth: identification of clonotypic gene fusion sequences in neonatal blood spots. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 94, p. 13950-13954, 1997.
- 14- GREAVES, M. Molecular genetics, natural history and the demise of childhood leukemia. *Eur J Cancer*, v. 35, n. 14, p. 1941-1953, 1999.
- 15- GREAVES, M. F. Childhood Leukemia. *BMJ*, v. 324, p. 283-287, 2002.

- 16- GREAVES, M. F.; WIEMELS, J. Origins of Chromosome Translocations in Childhood Leukaemia. *Nature*, n. 3, p. 1-11, 2003.
- 17- GREAVES, M. F.; MAIA, A. T.; WIEMELS, J. L.; FORD, A. M. Leukemia in Twins: lessons in natural history. *Blood*, v. 102, p. 2321-2333, 2003.
- 18- GREAVES, M. In utero origins of childhood acute leukemia. *Early Hum Dev*, v. 81, n. 1, p. 123-129, 2005.
- 19- GREAVES, M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nat rev Cancer*, v. 6, n. 3, p. 193-203, 2006.
- 20- HAMERSCHLAK, N. Leucemia: fatores prognósticos e genética. *J. Pediatr.*, v.84, n. 4, suppl. p. S52-57, 2008.
- 21- HEEREMA, N. A.; SATHER, H. N.; SENSEL, M. G.; ZHANG, T.; HUTCHINSON, R. J.; NACHMAN, J. B.; et al. Prognostic impact of trisomies of chromosomes 10, 17 and 5 among children with acute lymphoblastic leukemia and high hyperdiploidy (>50 chromosomes). *J. Clin. Oncol.* v. 18, n. 9, p. 1876-1887, may. 2000.
- 22- HITZLER, J. K.; ZIPURSK, A. Origins of leukaemia children with Down Syndrome. *Nat Rev Cancer*, v. 5, n. 1, p. 11-20, 2005.
- 23- HUNGER, S. P.; et al. Oncogenesis in utero: fetal death due to acute myelogenous leukaemia with an MLL translocation. *Br. J. Haematol.*, v. 103, n.2, p. 539-542, 1998.
- 24- IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Supplement 7: Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of *IARC Monographs* Volumes 1 to 42. 1987. Disponível em <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/suppl7/Suppl7-24.pdf>, acessado em 07/02/2010.
- 25- _____. International Agency for Research on Cancer. Static and extremely low-frequency electric and magnetic fields. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2002. (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans).
- 26- KINLEN, L. Evidence for an infective cause of childhood leukaemia: comparison of a Scottish new town with nuclear reprocessing sites in Britain. *Lancet*, v. 10, n. 2, suppl 8624, p. 1323-1327, 1988.
- 27- KINLEN, L. J. Epidemiological evidence for an infective basis in childhood leukaemia. *Br J Cancer*, v. 71, n. 1, p. 1-5, 1995.
- 28- KRIVTSOV, A.V.; ARMSTRONG, S. A. MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development. *Nature Reviews Cancer*, v. 7, p. 823-833, nov. 2007.
- 29- LABUDA, D.; et al. Parental genotypes in the risk of a complex disease. *Am J Hum Genet*, v. 71, n. 1, p. 193-197, 2002.
- 30- LINET, M. S.; RIES, L. A.; SMITH, M. A.; TARONE, R. E.; DEVESA, S.S. Cancer surveillance series: recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst*, v. 91, p. 1051-1058, 1999.
- 31- MARTINS, S. L. R.; REGO, E. M.; FALCÃO, R. P. *Classificação das Leucemias Agudas: Citologia, Citoquímica e Imunofenotipagem*. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. Hematologia: Fundamentos e Prática. Ateneu, 2001:433-445.
- 32- MA, X.; BUFFLER, P. A.; GUNIER, R. B.; DAHL, G.; SMITH, M. T.; RENIER, K.; et al. Critical windows of exposure to household pesticides and risk of acute leukemia. *Environ Health Perspect*, v. 110, p. 955-60, 2002.
- 33- McMICHAEL, A. J. *Human frontiers, environments and diseases – past patterns, uncertain futures*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001. 365 p.

- 34- MENEGAUX, F.; BARUCHEL, A.; BERTRAND, Y.; LESCOEUR, B.; LEVEGER, G.; NELKEN, B.; SOMMELET, D.; HÉMON, D.; CLAVEL, J. Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. *Occup Environ Med*, v. 63, p. 131-134, 2006.
- 35- MORI, H.; COLMAN, S. M.; XIAO, Z.; FORD, A. M.; HEALY, L. E.; DONALDSON, C.; et al. Chromosome translocations and covert leukemic clones are generated during normal fetal development. *Proc Nat Acad Sci USA*, v. 99, n. 12, p. 8242-8247, jun. 2002.
- 36- NAKADA, S.; KATSUKI, Y.; IMOTO, I.; YOKOYAMA, T.; NAGASAWA, M.; INAZAWA, J.; MIZUTANI, S. Early G2/M checkpoint failure as a molecular mechanism underlying etoposide-induced chromosomal aberrations. *J. Clin. Invest.* v. 116, p. 80–89, 2006.
- 37- PANG, D.; MCNALLY, R.; BIRCH, J. M. Parental Smoking and Childhood Cancer: results from the United Kingdom Childhood Cancer Study. *British Journal of Cancer*, v. 88, n. 3, p. 373-381, 2003.
- 38- PELISSARI, D. M.; BARBIERI, F. E.; FILHO, V. W. Magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children: a systematic review of case-control studies. *Cad. Saúde Pública*, v. 25, Sup 3, p. S441-S452, 2009.
- 39- PERERA, F. P. Molecular Epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment and prevention. *J Nat Cancer Inst*, v. 88, n. 8, p. 496-509, 1996.
- 40- POMBO-de OLIVEIRA, M. S.; et al. Lymphoblastic leukemia in Siamese Twins: evidence for identity. *Lancet*, v. 2, n. 8513, p. 969-970, 1986.
- 41- POMBO-de-OLIVEIRA, M. S.; KOIFMAN, S. Infant Acute Leukemia and Maternal Exposures during Pregnancy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 15, n. 12, p. 2336-2341, 2006.
- 42- POMBO-de-OLIVEIRA, M. S.; et al. Programa de Hematologia e Oncologia Pediátricos: Diagnóstico Imunomolecular, 2008. Disponível em www.imunomolecular.redecancer.org.br, acessado em 07/08/2010.
- 43- PUI, C. H.; SANDLUND, J. T.; PEI, D.; RIVERA, G. K.; HOWARD, S. C.; RIBEIRO, R. C.; et al. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA*, v. 290, p. 2001-2007, 2003.
- 44- REIS, R. S.; SANTOS, M. O.; THULER, L. C. S. Incidência de tumores pediátricos no Brasil. *Rev Bras de Cancerologia*, v. 53, n. 1, p. 5-15, 2007.
- 45- RUDANT, J.; MENEGAUX, F.; LEVEGER, G.; et al. Household Exposure to Pesticides and Risk of Childhood Hematopoietic Malignancies: The SCALE study (SFCE). *Environ Health Perspect*, v. 115, n. 12, p. 1787-1793, 2007.
- 46- SEER. Página Eletrônica do *Surveillance Epidemiology and End Results*. Disponível em URL: <http://www.seer.cancer.gov/>, acessado em 11/12/2009.
- 47- SHU, X. O.; POTTER, J. D.; LINET, M. S.; SEVERSON, R. K.; HAN, D.; KERSEY, J. H.; JOSEPH, P. N.; TRIGG, M. E.; ROBINSON, L. L. Diagnostic X-rays and Ultrasound Exposure and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia by Immunophenotype. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 11, p. 177-185, 2002.
- 48- SWAMINATHAN, R.; RAMA, R.; SHANTA, V. Childhood cancers in Chennai, India, 1990-2001: incidence and survival. *Int J Cancer*, v. 122, p. 2607-1611, 2008.
- 49- TURNER, M. C.; WIGLE, D. T.; KREWSKI, D. Residential pesticides and Childhood Leukemia: A systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect*, v.118, n.1, p. 33-41, 2010.
- 50- WAKEFORD, R.; LITTLE, M. P. Risk coefficients for childhood cancer after intrauterine irradiation: a review. *Int J Radiat Biol.*, v.79, n. 5, p. 293–309, 2003.

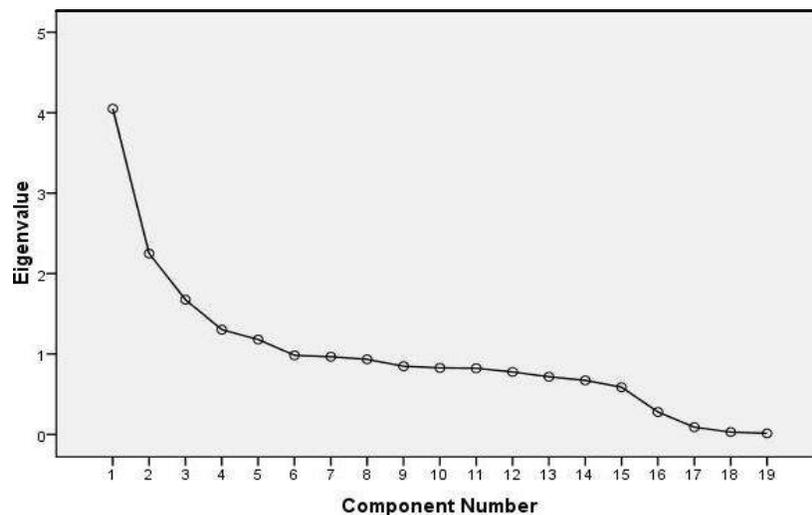
- 51- WERTHEIMER, N.; LEEPER, E. Electrical wiring configuration and childhood cancer. *Am J Epidemiol*, v. 109, p. 273-284, 1979.
- 52- WEN, W.; SHU, X. O.; POTTER, J. D.; SEVERSON, R. K.; BUCKLEY, J. D.; REAMAN, G. H.; ROBISON, L. L. Parental Medication Use and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer*, v. 95, p. 1786-1794, 2002.
- 53- WIGLE, D. T.; TURNER, M. C.; KREWSKI, D. A Systematic Review and Meta-Analysis of Childhood Leukemia and Parental Occupational Pesticide Exposure. *Environ Health Perspect.*, v. 117, n. 10, p. 1505-1513, 2009.
- 54- YANG, Q.; KHOURY, M. J.; SUN, F.; FLANDERS, W. D. Case-only design to measure gene-gene interaction. *Epidemiol.*, v. 10, n. 2, p.167-170, 1999.
- 55- YU, B. D.; HANSON, R. D.; HESS, J. L.; HORNING, S. E.; KORSMEYER, S. J. *MLL*, a mammalian trithorax-group gene, functions as a transcriptional maintenance factor in morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 95, p. 10632-10636, 1998.
- 56- ZAHM, S. H.; WARD, M. H. Pesticides and childhood cancer. *Environ Health Perspect*, v. 106, suppl 3, p. 893-908, 1998.

9 – APÊNDICES

9.1 – Modelo de Análise Fatorial (casos e controles)

As análises de componentes principais e fatorial foram realizadas no conjunto de casos e controles, onde se observou teste de KMO de 0,75 e o teste de esfericidade de Bartlett mostrou qui quadrado de 5853.782 (171 graus de liberdade, $p < 0,0001$), significativo. A análise de componentes principais revelou que 49% do total da variância do modelo foi explicada por quatro fatores, sendo estes identificados a partir dos critérios de Kaiser e Eigenvalue (Fig. 1).

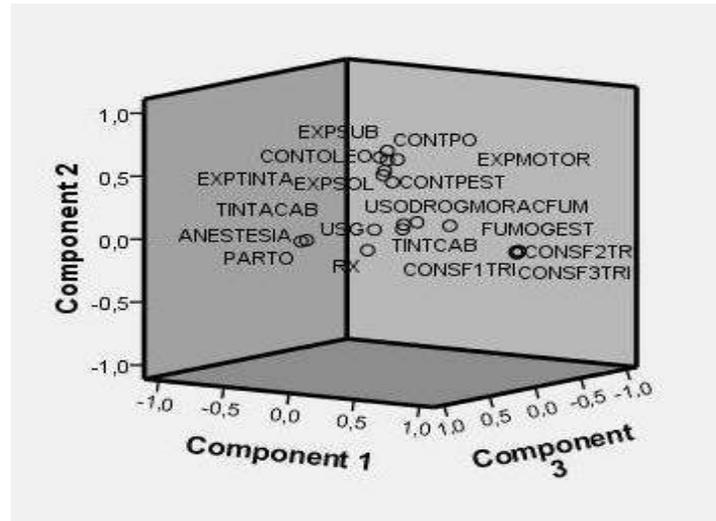
Figura 1 – *Scree Plot* de *eigenvalue* para cada componente extraído em fatores de dados obtidos no questionário respondido pelas mães de 833 crianças.



A rotação varimax (Fig.2) apresentou cargas fatoriais mais elevadas no primeiro fator constituído das variáveis: fumo materno durante a gestação; consumo de fumo materno no 1º, 2º e 3º trimestre da gestação; e residir com

fumantes durante a gestação. Por estas características, tendo explicado 21% da variância, este fator foi denominado *condições associadas ao hábito de fumar na gravidez*.

Figura 2 – Componentes em rotação varimax.



O segundo fator, responsável por 11,4% da variância, foi composto pela exposição materna a pesticidas, inseticidas e herbicidas; poeiras (metálicas, areia, cimento, concreto, madeira, carvão, fuligem, algodão, lã e/ou fibra de vidro); óleos (lubrificantes, fluido de corte, mineral e/ou outros); motores (ou máquinas movidas a gasolina, diesel, álcool, combustíveis, coque, carvão, plástico, madeira e/ou outros); solventes (e desengraxantes, aguarraz, trichloroetileno, percloroetileno e/ou outros); tintas; e outras substâncias químicas (creosoto, asfalto ou betume, ácido clorídrico ou sulfúrico, colas e/ou outros), recebendo o nome de *exposição ambiental e ocupacional materna na gestação*.

O terceiro fator contabilizou 9% da variância foi constituído pelas variáveis parto e anestesia, logo este foi intitulado *assistência obstétrica*. E o quarto fator, composto pelo exame radiológico e ultrassonográfico, uso de drogas pela mãe e tingimento capilar materno e paterno, foi denominado como *hábitos de vida e acesso a serviços de saúde* contribuindo com 7% da variância do modelo. A tabela abaixo apresenta as cargas fatoriais após a rotação varimax.

Tabela 1 – Carga Fatorial obtida pela rotação Varimax.

Variáveis	Condições associadas ao hábito de fumar na gravidez	Exposição ambiental ou ocupacional	Assistência Obstétrica	Hábitos de Vida e Acesso a serviços de saúde
Fumo durante a gestação	0,966	- 0,049	0,006	0,038
Consumo de fumo no 1º trimestre	0,981	- 0,059	0,017	0,040
Consumo de fumo no 2º trimestre	0,982	- 0,050	0,006	0,028
Consumo de fumo no 3º trimestre	0,974	- 0,044	- 0,014	0,031
Morar com fumantes durante a gestação	0,360	0,075	- 0,136	0,248
Contato materno durante a gestação com pesticidas	- 0,053	0,384	- 0,096	0,109
Contato materno durante a gestação com poeiras	- 0,034	0,574	- 0,013	0,075
Contato materno durante a gestação com óleos	- 0,036	0,606	0,063	0,037
Contato materno durante a gestação com motores	- 0,091	0,601	0,053	- 0,277
Contato materno durante a gestação com solventes	- 0,080	0,530	0,176	0,005
Contato materno durante a gestação com outras substâncias químicas	- 0,002	0,658	0,033	- 0,057
Contato materno durante a gestação com tintas	- 0,078	0,447	- 0,031	0,122
Parto	- 0,053	0,058	0,903	0,019
Anestesia	- 0,014	0,072	0,898	0,083
Ultrassonografia	- 0,034	0,042	0,126	0,492
Radiografia	- 0,068	- 0,121	0,154	0,433
Uso de drogas materno durante a gestação	0,101	0,074	- 0,148	0,554
Tingimento capilar materno	0,124	0,085	0,033	0,474
Tingimento capilar paterno	0,056	0,028	- 0,053	0,442
% Variância Explicada	21,1	11,4	9,2	7,1
% Cumulativo	21,1	32,5	41,7	48,8

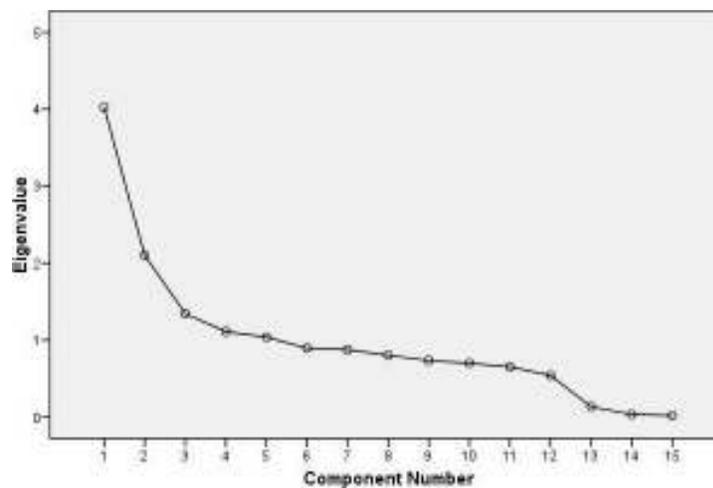
Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”.

9.2 – Modelo de Análise Fatorial (casos)

Procedemos a análise separadamente de casos e controles. Nos casos, o teste KMO observado foi também de 0,75, considerado adequado para análise fatorial e o de Bartlett, significativo ($p < 0,0001$). Foram identificados três

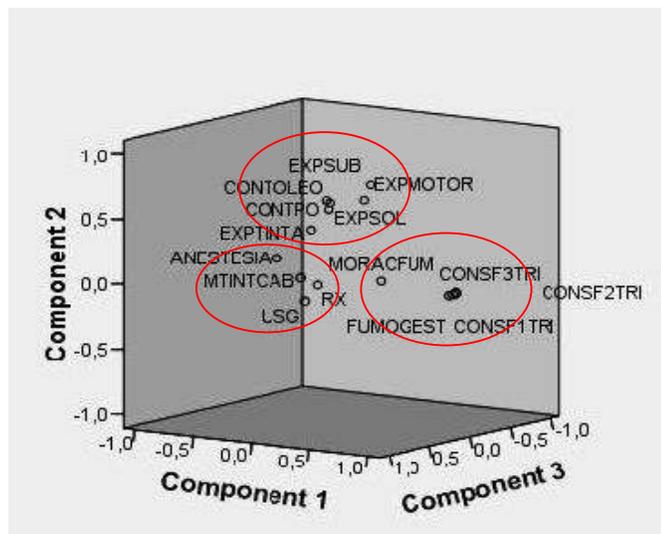
fatores a partir do critério de Kaiser e *eigenvalue* (Fig. 3). Estes fatores explicam 50% da variância do conjunto de dados.

Figura 3 – *Scree Plot* de *eigenvalue* para cada componente extraído em fatores de dados obtidos no questionário respondido pelas mães de 292 casos de leucemias da infância.



Após a rotação varimax (Fig.4), as cargas fatoriais foram organizadas na tabela 2. O primeiro fator representou 27% do total da variância. Foi denominado *condições associadas ao hábito de fumar na gravidez* devido a sua composição: fumo materno durante a gestação; consumo de fumo materno no 1º, 2º e 3º trimestre da gestação; e residir com fumantes durante a gestação.

Figura 4 – Componentes em Rotação Varimax.



O segundo fator compreendeu a exposição materna a poeiras; óleos; motores; solventes; tintas; e outras substâncias químicas. Por estas características, este fator explicando 14% da variância, foi denominado de *exposição ambiental e ocupacional materna na gestação*.

O terceiro fator contabilizou 9% da variância foi constituído pelo exame radiológico e ultrassonográfico, anestesia e tingimento capilar materno, tendo sido denominado como *hábitos de vida e acesso a serviços de saúde* (Tabela 2).

Tabela 2 – Carga fatorial obtida após rotação Varimax.

Variáveis	Condições associadas ao hábito de fumar na gravidez	Exposição ambiental ou ocupacional	Hábitos de Vida e Acesso a serviços de saúde
Fumo durante a gestação	0,950	- 0,039	0,021
Consumo de fumo no 1º trimestre	0,977	- 0,032	0,014
Consumo de fumo no 2º trimestre	0,974	- 0,029	- 0,025
Consumo de fumo no 3º trimestre	0,963	- 0,023	-0,045
Morar com fumantes durante a gestação	0,428	0,034	0,126
Contato materno durante a gestação com poeiras	- 0,089	0,521	0,026
Contato materno durante a gestação com óleos	- 0,055	0,605	0,102
Contato materno durante a gestação com motores	0,075	0,687	- 0,284
Contato materno durante a gestação com solventes	0,017	0,601	0,164
Contato materno durante a gestação com outras substâncias químicas	0,147	0,603	- 0,069
Contato materno durante a gestação com tintas	- 0,106	0,391	0,218

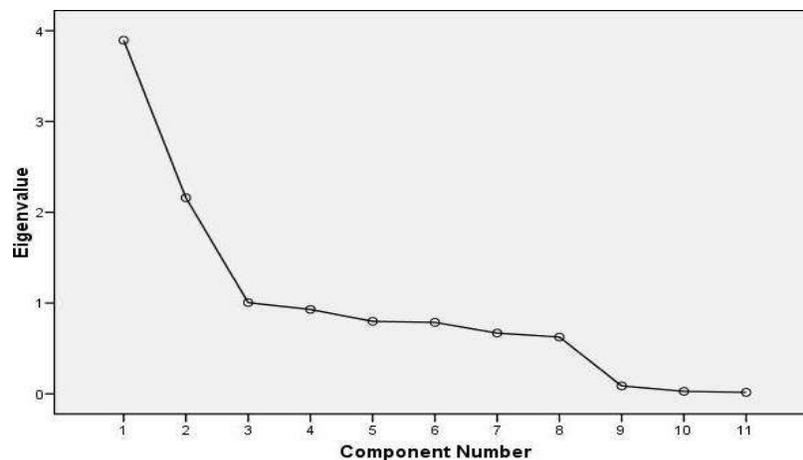
Ultrassonografia	0,118	- 0,082	0,614
Radiografia	0,016	- 0,010	0,312
Anestesia	- 0,154	0,218	0,569
Tingimento capilar materno	0,109	0,103	0,652
% Variância Explicada	26,8	13,7	9,3
% Cumulativo	26,8	40,5	49,8

Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”.

9.3 – Modelo de Análise Fatorial (controles)

Na análise dos controles, o teste KMO observado foi de 0,79, assim como nos casos foi considerado adequado para análise fatorial e o de Bartlett, também significativo ($p < 0,0001$). O melhor modelo explicativo, contabilizando 55% da variância, foi formado por dois fatores a partir do critério de Kaiser e *eigenvalue* (Figura 5).

Figura 5 – *Scree Plot* de *eigenvalue* para cada componente extraído em fatores de dados obtidos no questionário respondido pelas mães de 541 controles.



A tabela 3 mostra os dois fatores extraídos e a carga fatorial atribuída. O primeiro foi intitulado *condições associadas ao hábito de fumar na gravidez* e explicou 35% da variância do conjunto de dados e contemplou as seguintes variáveis originais: fumo durante a gestação e o consumo de fumo no 1º, 2º e 3º trimestre.

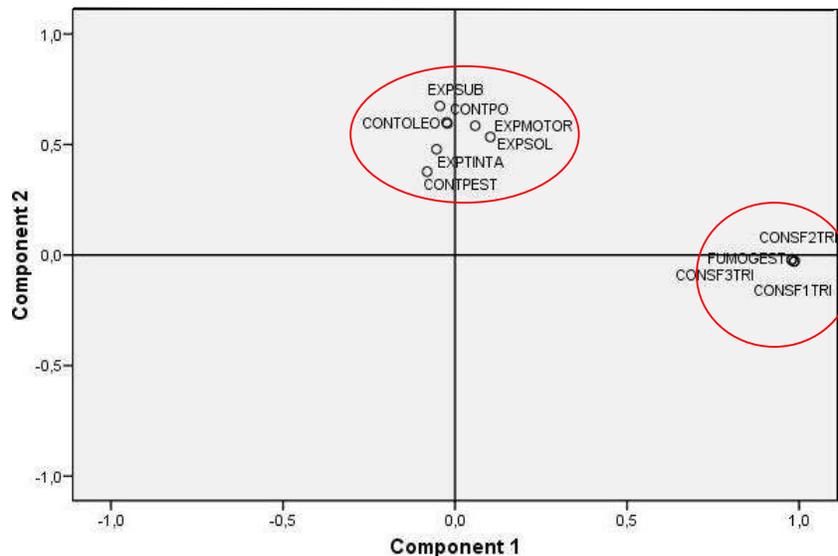
Tabela 3 – Carga fatorial obtida após rotação Varimax.

Variáveis	Condições associadas ao hábito de fumar na gravidez	Exposição ambiental ou ocupacional
Fumo durante a gestação	0,980	- 0,018
Consumo de fumo no 1º trimestre	0,985	- 0,030
Consumo de fumo no 2º trimestre	0,987	- 0,028
Consumo de fumo no 3º trimestre	0,978	- 0,022
Contato materno durante a gestação com pesticidas	- 0,081	0,377
Contato materno durante a gestação com poeiras	- 0,025	0,600
Contato materno durante a gestação com óleos	- 0,022	0,595
Contato materno durante a gestação com motores	0,059	0,585
Contato materno durante a gestação com solventes	- 0,102	0,534
Contato materno durante a gestação com outras substâncias químicas	- 0,044	0,674
Contato materno durante a gestação com tintas	- 0,054	0,479
% Variância Explicada	35,333	19,638
% Cumulativo	35,333	55,048

Fonte: Dados obtidos por meio do “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”.

O segundo fator, responsável por 20% da variância, foi composto pela exposição materna a pesticidas, inseticidas e herbicidas; poeiras; óleos; motores; solventes; tintas; e outras substâncias químicas, recebendo o nome de “*exposição ambiental e ocupacional materna durante a gestação*”. Ambos os componentes estão representados abaixo, após rotação (Fig.6).

Figura 6 – Componentes em Rotação Varimax.



9.4 – COLABORADORES

J. D. Ferreira e A. C. Couto participaram na análise dos dados e redação do texto. L. C. Alves supervisionou a análise estatística dos dados e a revisão do texto final. M. S. Pombo-de-Oliveira coordenou a investigação “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos” pela qual foram gerados os dados analisados neste trabalho, e revisão do texto final. S. Koifman coordenou o desenho do instrumento de coleta de dados, o treinamento dos entrevistadores, a análise epidemiológica dos dados e a revisão do texto final.

9.5 – AGRADECIMENTOS

Jeniffer Dantas Ferreira e Arnado Cezar Coutto são mestrandos do Programa de Pós-graduação Saúde Pública e Meio Ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública/ Fiocruz e apoiados com bolsas de estudo da instituição. Luciana Correia Alves é pesquisadora visitante pela Escola Nacional de Saúde Pública/ Fiocruz e bolsista apoiada pela FAPERJ. Sergio Koifman e Maria do Socorro Pombo de Oliveira têm suas atividades de pesquisa apoiadas pelo Conselho Nacional de Pesquisas e Desenvolvimento Científico (CNPq) e Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). Esta investigação foi parcialmente apoiada pela Swiss Bridge Foundation (grant 2301504) e pela Fogarty International Center, através do Irving J. Selikoff International Scholars Program, Mount Sinai School of Medicine (Award Number D43TW00640). O conteúdo do texto apresentado é de responsabilidade dos autores e não necessariamente representa o ponto de vista oficial da Fogarty International Center ou do National Institutes of Health, Estados Unidos.

9.6 – Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia

Paulo Ivo C Araújo¹, Jozina Aquino², Jose Andréa Yunes³, Reinaldo Del Belo⁴, Ricardo Bigni⁴, Lilian Burlemaqui², Tereza Cristina Cardoso, Maurício Dumond², Fernando Augusto de Freitas³, Eni Guimarães Carvalho⁵, Virginia M Coser⁶, Maria Célia Moraes Guerra¹, Maria Lucia Lee, Núbia Mendonça², Isis Q Magalhães⁷, Flávia Pimenta⁸, Gilberto Ramos⁹, Terezinha JM Salles¹⁰, Ednalva Leite¹⁰, Carmen M Mendonça¹¹, Flávia Nogueira² e Fernando Werneck¹²

¹Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira, UFRJ, Rio de Janeiro;

²Sociedade de Oncologia da Bahia, Salvador-Bahia;

³Centro Infantil de Investigações Hematológicas D Boldrini, Campinas, São Paulo;

⁴Centro de Pesquisa and Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro;

⁵Hospital Martagão Gesteira, Salvador-Bahia;

⁶Departamento de Hematologia, Universidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul;

⁷Hospital de Apoio Brasília, Unidade de Onco-Hematologia Pediátrica, Brasília, DF;

⁸Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa, Paraíba;

⁹Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG;

¹⁰Hospital Oswaldo Cruz, CEON, Recife, Pernambuco;

¹¹Serviço de Oncologia do Hospital Joana de Gusmão Florianópolis, Santa Catarina;

¹²Departamento de Pediatria, Hospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro

10 – ANEXOS

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)