

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

“Gestação, consumo de álcool e fumo, exposições ocupacionais materna e paterna e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos”

por

Jeniffer Dantas Ferreira

Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Rosalina Jorge Koifman

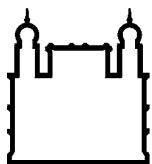
Rio de Janeiro, agosto de 2015.

Catálogo na fonte

Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica

Biblioteca de Saúde Pública

F383g	Ferreira, Jeniffer Dantas Gestação, consumo de álcool e fumo, exposições ocupacionais materna e paterna e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos. / Jeniffer Dantas Ferreira. -- 2015. xiv,179 f. : il. ; tab. ; mapas Orientador: Rosalina Jorge Koifman Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2015. 1. Gravidez. 2. Consumo de Bebidas Alcoólicas. 3. Transtornos Relacionados ao Uso de Substâncias. 4. Hábito de Fumar. 5. Hematopoese. 6. Leucemia - epidemiologia. 7. Lactente. 8. Exposição Ocupacional. 9. Exposição Ambiental. I. Título. CDD – 22.ed. – 616.994
-------	--



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



Esta tese, intitulada

“Gestação, consumo de álcool e fumo, exposições ocupacionais materna e paterna e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos”

apresentada por

Jeniffer Dantas Ferreira

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Marcelo Gerardin Poirot Land

Prof.^a Dr.^a Valéria Saraceni

Prof.^a Dr.^a Sabrina da Silva Santos

Prof.^a Dr.^a Carmen Freire Warden

Prof.^a Dr.^a Rosalina Jorge Koifman – Orientadora

Tese defendida e aprovada em 13 de agosto de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Professor Dr. Sergio Koifman pela convivência, pela impecável orientação e pelo aprendizado oportunizado no decorrer dos cursos de mestrado e de doutorado. As leituras atenciosas, os comentários e as sugestões em nossas reuniões, incentivando-me durante toda a execução e elaboração do trabalho. Logo, a sua ausência culminou na incerteza do desfecho.

A conclusão deste doutorado não teria sido possível sem o acolhimento e paciência da Dra. Rosalina Koifman. Sou muito grata pela confiança e suporte nas etapas vivenciadas neste último ano.

Ao Arnaldo Couto pelo seu companheirismo e valiosas revisões nos manuscritos, mesmo tendo me abandonado no meio do curso (por uma ótima causa!).

À minha família, Sueli, Michelle e Eduarda por aturarem meus surtos nos momentos de tristeza pela perda do mentor, "pane" do notebook, infindáveis pendências do comitê de ética, enfim em todos os momentos difíceis da elaboração deste.

Aos amigos Marjory e João Paulo pela leitura e correção ortográfica bilíngue! E, demais amigos Monique, Juliane, Bianca, Renata, Thiago, Rubens, Raquel, Élide, Sabrina, Alexandre e Guilherme pelas viagens, congressos e oficinas de artigos, cobranças de defesa, apoio incondicional e incentivo para seguir em frente ("afinal sabíamos que você entregaria nos 48 do segundo tempo").

Aos membros da banca por se disponibilizarem a participar da banca de defesa de tese, e conseqüentemente, suas sugestões enriquecedoras para este trabalho.

À Dr^a. Maria do Socorro Pombo de Oliveira, 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 tese.

**“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é
o período mais difícil da vida de alguém”**

Dalai Lama

SUMÁRIO

Pág.

1- INTRODUÇÃO	01
2- REFERENCIAL TEÓRICO	04
2.1- Hematopoiese e Leucemogênese	04
2.2- Classificação das Leucemias	07
2.2.1- Diagnóstico das LLA	08
2.2.2- Diagnóstico das LMA	10
2.3- Incidência das Leucemias	12
2.4- Contextualização Histórica.....	15
2.4.1- Teoria da Mistura Populacional	16
2.4.2- Teoria das Mutações Pré e Pós-natal	16
2.5- Exposições Ambientais e as Leucemias	17
2.5.1- Consumo de Fumo	22
2.5.2- Consumo de Álcool	25
2.5.3- Exposições Ocupacionais	31
3- JUSTIFICATIVA	53
4- OBJETIVOS	55
5- MÉTODOS	56
5.1- População de Estudo.....	56
5.2- Desenho de Estudo.....	57
5.3- Critérios de Inclusão	57
5.4- Critérios Exclusão	58
5.5- Coleta de Dados	58

5.6- Variáveis de Estudo	59
5.7- Análises Estatísticas	60
5.8- Questões Éticas	61
5.9- Apoio Financeiro	61
6- RESULTADOS	62
6.1- 1º Artigo: Pregnancy, maternal tobacco smoking and early age leukemia in Brazil	63
6.2- 2º artigo: Maternal Alcohol Consumption during Pregnancy and Early Age Leukemia Risk in Brazil	92
6.3- 3º Proposta de artigo: A case-control study of early age leukemia and parental occupational exposures during pregnancy in Brazil	116
7- CONSIDERAÇÕES FINAIS	155
8- REFERENCIAIS BIBLIOGRÁFICOS	158
9- ANEXOS	180

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Pág.

Figura 1 – Hematopoiese e linhagem celular	04
Figura 2 – Hematopoiese no conceito	05
Figura 3 – Principais anomalias cromossômicas linfoides e mieloides nos diferentes estágios de maturação hematopoiética	11
Figura 4 – Taxa de incidência de leucemias ajustadas por idade por 1.000.000 de crianças e adolescentes (menores de 19 anos) por RCBP do Brasil, 2010	14
Figura 5 – Principais tipos de bebidas alcoólicas consumidas (em litros), 2005.....	26
Figura 6 – Consumo de puro álcool total (em litros) per capta (adultos) na população mundial em 2005	27
Figura 7 – Mapa com distribuição dos centros diagnósticos participantes no Brasil	56

LISTA DE TABELAS

Pág.

Tabela 1- Taxas de incidência de leucemia por idade para ambos os sexos, Brasil, Globocan, 2008.	13
Tabela 2 – Estudos sobre fatores de risco ocupacionais paternos e/ou maternos durante a gestação e leucemias na infância	33

1º Artigo:

Table 1- Distribution of selected maternal and child socio-demographic variables, leukemia cases and controls, children < 2 year, Brazil, 199-2007.....	78
Table 2- Maternal smoking during pregnancy according to offspring age strata, leukemia cases, and control mothers, children <2 year, Brazil, 1999-2007	79
Table 3 – Secondhand maternal smoking, consumption amount and duration of tobacco exposure, leukemia cases and control mothers, children < 2 year, Brazil, 1999-2007..	81
Table 4 – Maternal smoking by tobacco consumption burden, leukemia cases, and control mothers, children < 2 year, Brazil, 1999-2007.....	82

2º Artigo:

Table 1- Distribution of selected maternal and child demography of early age leukemia and controls, Brazil, 1999–2007.....	111
Table 2- Maternal alcohol consumption preconception and/or during pregnancy, early age leukemia, and control mothers, Brazil, 1999–2007	112

Table 3 – Maternal alcohol drinking preconception and/or during pregnancy risk according to offspring age strata, leukemia subtypes, and control mothers, Brazil, 1999–2007.....	114
Table 4 – Maternal smoking and alcohol consumption interaction risk for early age leukemia, Brazil, 1999–2007	115

3° Proposta de Artigo:

Table 1- Distribution of selected maternal and child demography of early age leukemia and controls, Brazil, 1999–2007.....	135
Table 2- Leukemia risk related to paternal occupation before and during pregnancy.....	136
Table 3 – Leukemia risk related to maternal occupation before and during pregnancy.....	147

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Adj. OR – Adjusted Odds Ratio

ALL – Acute Lymphoid Leukemia

BCSGIAL – Brazilian Collaborative Study Group of Infant Leukemia

BM-HSCs – Células-tronco da Medula Óssea Hematopoiéticas

CD – Cluster Differentiation

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CI – Confidence Intervals

CID 10 – Classificação Internacional de Doenças e Problemas relacionados à saúde

cit – Citoplasmático

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

EAL – Early age leukemia

EGIL – European Group for the Immunological Classification of Leukemias

ELF-MFs – Extremely Low Fields Magnetic Frequencies

ENSP – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

DDT - Diclorodifeniltricloroetano

DNA - Deoxyribonucleic Acid

FAB – French-American-British

FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

FDA – Food and Drug Administration

FHC – Familial History of Cancer

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

FL-HSCs – Células-tronco do fígado fetal

HFC – História Familiar de Câncer

HQ – Hidroquinona

IARC – International Agency for Research on Cancer

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Intervalo de Confiança

IL – Infant Leukemias

INCA – Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva

LAI – Leucemias Agudas na Infância

LKB1 – Enzima hepática Quinase B1

LLA – Leucemia Linfóide Aguda

LLC – Leucemia Linfóide Crônica

LMA – Leucemia Mieloide Aguda

LMC – Leucemia Mieloide Crônica

MLA – Myeloid Acute Leukemia

MLL – Mixed Lineage Leukemia

MLL-r – Mixed Lineage Leukemia rearrangements

MPO – Mieloperoxidase

mo. – Months

mSv - miliSievert

MTE – Ministério do Trabalho e Emprego

NQO1 – NAD(P)H dehydrogenase quinone 1

OMS – Organização Mundial de Saúde

OR – Odds Ratio

OR ajus – Odds ratio ajustada

P450 – Citocromo P450 ou CYP450

p value – p valor

p trend – p de tendência

RCBP – Registro de Câncer de Base Populacional

RR – Relative risk ou Risco Relativo

TdT – Terminal Desoxinucleotidil Transferase

UEZO – Universidade Estadual da Zona Oeste

WHO – World Health Organization

μ T – micro tesla

1- INTRODUÇÃO

A associação entre envelhecimento humano e o aumento das taxas de incidência de diversos tipos de câncer é reconhecida pela comunidade científica. A plausibilidade biológica deste processo se pautava na multiplicidade de fatores aos quais os indivíduos se expõem ao longo do tempo, além da instabilidade do genoma, que é uma característica do envelhecimento, também presente na maior parte das neoplasias (Finkel *et al.*, 2007). As exposições a fatores de risco podem implicar na redução das funções anti-oncogênicas, como reparação do dano oxidativo ao DNA (Finkel *et al.*, 2007).

Muitos desses fatores compreendem comportamentos construídos nas duas primeiras décadas de vida, visto que a infância e a adolescência são períodos críticos do desenvolvimento. Além da formação de hábitos de vida, a exposição a fatores ambientais nessas fases pode afetar a homeostase, comprometendo a saúde do adulto. Diversas doenças crônicas têm sua origem no início da vida, como, o peso ao nascer que tem sido associado a doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes e câncer (INCA, 2006).

Estudos epidemiológicos em diversos países associaram a exposição de distintos fatores ambientais na vida fetal ou fases iniciais da vida extrauterina com alterações na expressão da carga genética do indivíduo e o aparecimento de doenças crônicas. Em menores de 2 anos, o tempo de exposição aos fatores de risco e de latência das leucemias agudas são reduzidos. Assim, acredita-se que a leucemia na primeira infância tenha uma causa multifatorial, com curso clínico e biológico distinto

das demais faixas etárias, sendo o período gestacional extremamente susceptível (Kheifets *et al.*, 2005; Rudant *et al.*, 2007).

A leucemia consiste em um grupo heterogêneo de doenças malignas que ocorrem na medula óssea com diferentes características morfológicas, imunofenótípicas e citogenética-moleculares, acarretando distintos padrões de evolução clínica e prognósticos terapêuticos.

Embora constitua uma doença rara, quando comparada às neoplasias em adultos, a leucemia é o tumor pediátrico mais comum em todo o mundo. A incidência da leucemia aguda corresponde a cerca de 30-40% dos diagnósticos de câncer na infância, sendo mais comum em menores de 15 anos (Buffler *et al.*, 2005; Stiller, 2009; INCA, 2010).

Ao se considerar a etiologia múltipla das leucemias, os estudos epidemiológicos têm concentrado seus esforços na distinção dos fatores de risco (Hamerschlak, 2008; Pelissari, 2009), e na interação entre os fatores genéticos e ambientais (Greaves, 1999; Pombo-de-Oliveira e Koifman, 2006). As seguintes exposições são reconhecidas como fatores de risco para leucemias na infância, a exposição à radiação ionizante (IARC, 2000); benzeno (IARC, 1982); e síndromes genéticas como Down (Lange, 2000; Khan, 2011).

Encontram-se outros possíveis fatores como histórico familiar de câncer (Couto *et al.*, 2013), infecções (Belson *et al.*, 2007), abortos espontâneos (Ma *et al.*, 2005), baixo peso ao nascer (Smulevich, 1999), elevado peso ao nascer (Koifman *et al.*, 2008; Metayer *et al.*, 2013), estrógenos (Pombo-de-Oliveira e Koifman, 2006), agentes quimioterápicos (Felix *et al.*, 1999; Pui *et al.*, 2000), uso de dipirona (Pombo-de-Oliveira

e Koifman, 2006; Couto *et al.*, 2015), drogas alucinógenas (Slater *et al.*, 2011), consumo de álcool (Menegaux *et al.*, 2007), consumo de tabaco (Milne *et al.*, 2012) e exposição a pesticidas (Ferreira *et al.*, 2013), fatores socioeconômicos (Poole *et al.*, 2006).

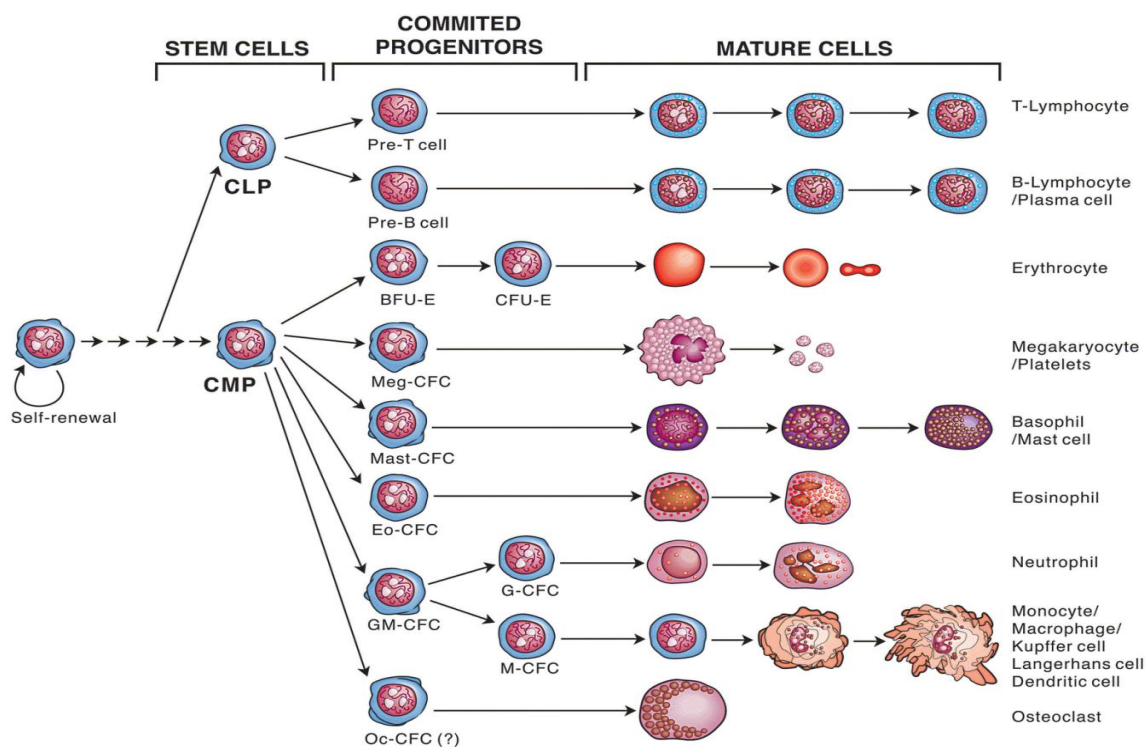
Em virtude da possível exposição fetal a diversos fatores ambientais e sua interação com os fatores genéticos, torna-se pertinente investigar a contribuição da exposição materna ao tabaco e ao álcool, bem como das exposições ocupacionais paterna e materna durante o período peri-gestacional e o desenvolvimento das leucemias agudas em menores de 2 anos.

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 (*stem cell*) que se encontra na medula óssea. Esta apresenta capacidade de auto-renovação, ou seja, se dividir assimetricamente dando origem a uma nova célula-tronco e a uma célula progenitora com linhagem específica definida, ocorrendo a perda potencial de auto-regeneração nesta última (Fig. 1).

Figura 1 – Hematopoiese e Linhagem celular

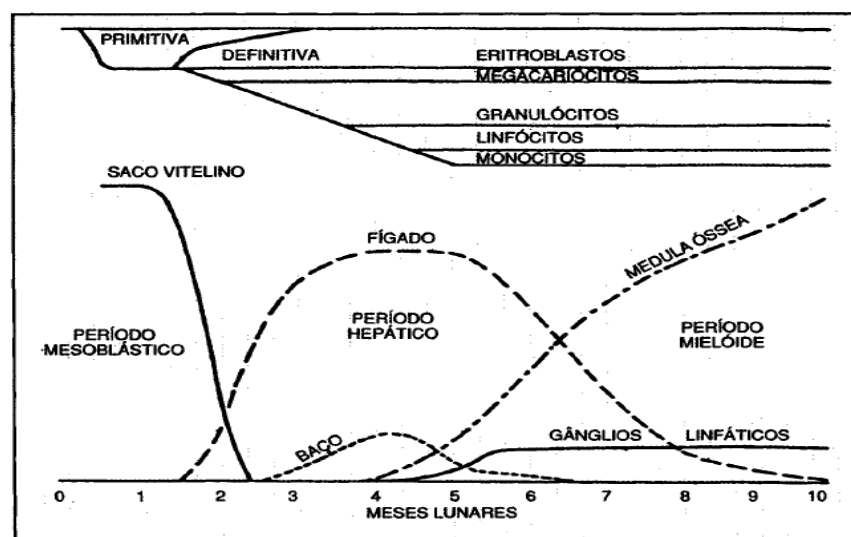


Fonte: Metcalf D. (2007). On Hematopoietic Stem Cell Fate. Immunity, 26.

Por conseguinte, tem como pré-requisito um microambiente normal, capaz de sintetizar fatores de crescimento necessários às células progenitoras de modo que possam formar as distintas linhagens sanguíneas e desempenhar suas funções específicas (Martins *et al.*, 2001). Em cada estágio de maturação, as células expressam marcadores de diferenciação (*cluster differentiation* – CD) essenciais para o seu reconhecimento celular (Bagby e Heinrich, 2000).

A formação das células sanguíneas se inicia na vida intrauterina, e segundo Wintrobe (1961), divide-se em 3 períodos: mesoblástico, hepático e mielóide (Fig. 2). O período mesoblástico inicia-se próximo a 2^a ou 3^a semana após a fecundação, onde se observa o aparecimento de grupos de células no mesênquima embrionário e nas ilhotas sanguíneas que representam os elementos progenitores dos sistemas vascular e hematopoético. As células sanguíneas se originam de células endoteliais (hemocitoblastos), ao final da 3^a semana.

Figura 2 – Hematopoiese no concepto.



Fonte: Wintrobe MM. (1961).

Ao redor do 22º dia de gestação, encontram-se ilhotas de sangue semelhantes nos tecidos mesodérmicos do embrião. Por volta da sexta semana de gestação, o período de hematopoiese intravascular é reduzido, desaparecendo totalmente ao fim do terceiro mês de vida embrionária.

A formação do sangue no embrião se inicia a partir da quinta semana gestacional, onde se observam núcleos de células hematopoéticas nos sinusóides hepáticos. O fígado é o local principal de hematopoiese entre o terceiro e quinto mês de vida fetal, portanto este período da hematopoiese extravascular denomina-se período hepático. Neste período, são encontrados granulócitos e megacariócitos, além de células precursoras da série vermelha que representam 50% dos elementos nucleados. Durante o terceiro mês de vida do conceito também pode ser observada atividade hematopoética no baço, timo e gânglios linfáticos. Assim como no fígado, a produção de células sanguíneas no baço persiste até a primeira semana de vida extrauterina (Leveno *et al.*, 2014).

A hematopoiese na medula óssea inicia-se entre o terceiro e o quarto mês de vida fetal, devido ao surgimento dos espaços medulares no interior dos ossos, atingindo maior atividade por volta do sexto mês de gestação, com representação de todas as linhagens celulares e, no último trimestre, é o principal responsável pela formação de células sanguíneas.

No que tange à produção quantitativa, o feto e o recém-nascido detém volume medular consideravelmente menor quando comparado a outros indivíduos de faixas etárias maiores, devido ao tamanho dos ossos e a presença de tecido cartilaginoso. Sendo assim, a leucemia pode ser vista como resultante de alterações nos

mecanismos homeostáticos que regulam a produção e diferenciação celular sanguínea, acarretando uma desordem do sistema hematopoético decorrente de uma ou mais mutações genéticas nos precursores hematopoéticos. Tais alterações resultam no acúmulo de células imaturas que perderam sua capacidade de diferenciação, porém, mantiveram a capacidade proliferativa, desenvolvendo uma expansão clonal maligna (Leveno *et al.*, 2014).

O número de mutações necessário para desencadear a leucemogênese não é descrito na literatura, entretanto, acredita-se tratar de um processo multifatorial através da combinação de fatores genéticos, ambientais e de susceptibilidade individual (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 1986; Hunger *et al.*, 1998; Bhatia *et al.*, 2000; Labuda *et al.*, 2002; Greaves, 2002). O efeito dos fatores ambientais é modulado pelos genes, cujas alterações podem comprometer os processos de metabolismo, detoxificação e eliminação dos carcinógenos exógenos podendo levar a alterações celulares leucemogênicas (Perera, 1996).

2.2 – Classificação das Leucemias

As leucemias são classificadas em quatro grupos: Leucemia Linfóide ou Mieloide Aguda (LLA ou LMA) e Leucemia Linfóide ou Mieloide 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 mieloide (Martins *et al.*, 2001). De acordo com a Classificação Internacional de

Doenças (CID 10), recebem a classificação C91.0 as linfoides e, C92.0, as mieloides (DATASUS, 2010).

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. A multiplicação celular sem controle e o acúmulo destes, inibe o crescimento, maturação e função das células precursoras eritróides, granulocíticas e megacariocíticas.

Nas leucemias crônicas, as células malignas se desenvolvem em estágios mais tardios, visto que a capacidade de maturação é mantida. As células se assemelham às normais e se acumulam excessivamente na medula óssea e sangue periférico. O curso da doença é lento e progressivo, pois em geral, as células funcionam adequadamente (Hamerschlak, 2008).

O termo leucemia aguda da infância (LAI) 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). Entretanto, considera-se que os primeiros 1000 dias (da concepção aos 2 anos de idade) sejam uma janela de vulnerabilidade tanto para a saúde quanto ao desenvolvimento da criança (Adair *et al.*, 2013). Sendo então classificado como *early age leukemia* (EAL).

2.2.1- Diagnóstico das LLA

O diagnóstico destas leucemias envolve critérios morfológicos, imunofenotípicos e citogenético-moleculares essenciais para um diagnóstico preciso e

prognóstico e tratamentos adequados. As LLA representam 75% dos casos leucêmicos pediátricos com incidência mais elevada na faixa entre 2 e 5 anos (Pui *et al.*, 2004)

A classificação morfológica do grupo *French-American-British* (FAB) fundamenta-se no diâmetro celular, na forma do núcleo, no número e nas proeminências dos nucléolos e aspecto citoplasmático. Subdividem-se em três grupos L1, L2 e L3. O subtipo L1 é o mais frequente, caracterizado por blastos pequenos e um aumento da relação núcleo/citoplasma. No subtipo L2, os blastos são maiores e não uniformes, apresentando nucléolos proeminentes e menor relação entre o núcleo e o citoplasma. Já o subtipo L3 é pouco frequente, evidenciando intensa vacuolização citoplasmática e considerado de pior prognóstico (Lee, 1998).

Os critérios imunofenotípicos adotados pelo *European Group for Immunophenotyping Leukaemia* (EGIL), classificam as leucemias linfóides em B-I, B-II, B-III e B-IV (Béné *et al.*, 1999). A OMS divide as leucemias em células B em pró-B, B comum, pré-B, B-madura e as células T em pró-T (T-I), pré-T (T-II), T-cortical (T-III) e T-maduro (T-IV). A imunofenotipagem permite a distinção das linhagens e dos estágios de diferenciação e maturação celulares, viabilizada por meio da técnica de citometria de fluxo. Consiste numa técnica cuja presença de antígenos de diferenciação celular nos blastos é evidenciada por anticorpos monoclonais (marcadores de membrana e citoplasmáticos). As LLA de origem T apresentam CD3 cit, CD7 e TdT (Naoum, 2001) e as de células B, CD19, CD22, CD79a cit (Béné, 2005).

As análises citogenéticas permitem a avaliação de alterações tanto no número dos cromossomos quanto em sua estrutura (translocações, fusões, deleções e inversões) (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2008). As principais de linhagem T compreendem:

as translocações t(1;14)(pq32-34;q11), t(8;14)(q24;q11), t(10;14)(q24;q11) e t(11;14)(pq13;q11). Dentre as alterações cromossômicas de linhagem B estão: t(4;11), t(12;21), t(1;19), t(9;22) e t(8;14) (Fig.3).

Os rearranjos no gene *MLL* (*Mixed Lineage Leukemia*), detectados pela análise molecular, apresentam-se cerca de 80% dos casos de LLA e estão associados a um mau prognóstico (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2008).

2.2.2- Diagnóstico das LMA

As LMA acometem principalmente adultos, e nesta faixa etária cerca de 80% das leucemias são mieloides. Em crianças observa-se percentual entre 15 e 20% (Bhatia *et al.*, 2000, Belson *et al.*, 2007).

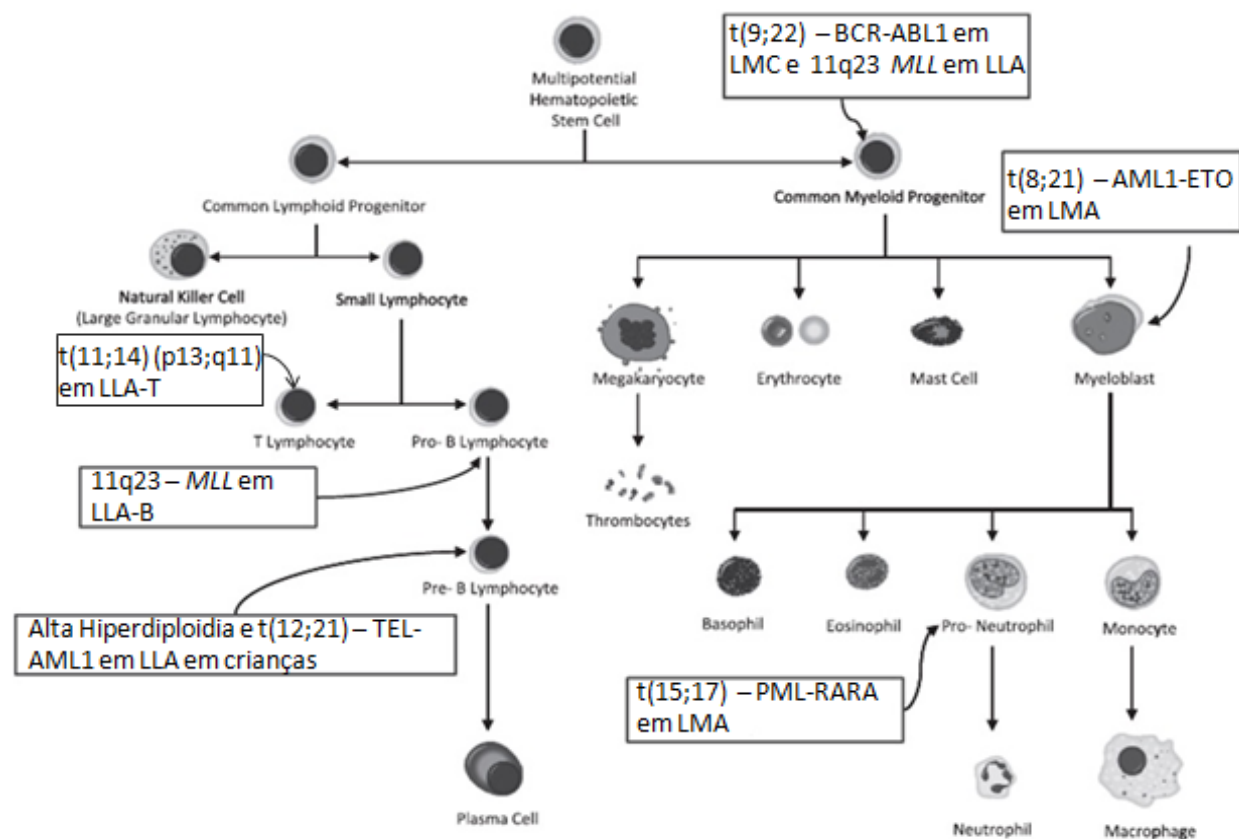
As LMA possuem oito subgrupos morfológicos distintos e variantes: M0 (sem diferenciação morfológica); M1 (mieloblástica – mínima diferenciação); M2 (mieloblástica aguda com maturação); M2v (mieloblástica aguda com maturação variante); M3 (promielocítica hipergranular); M3v (promielocítica hipogranular variante); M4 (mielomonocítica); M4 eo (mielomonocítica com eosinofilia); M5a (monocítica sem maturação); M5b (monocítica com maturação); M6 (eritrocítica); e M7 (megacariocítica) (Melo, 2013).

Dentre os anticorpos monoclonais que caracterizam a linhagem mieloide estão o CD13, CD33, CD34, CD117 e MPO (Naoum, 2001; Melo, 2013).

Cerca de 80% das células blásticas, em crianças portadoras de LMA, apresentam anormalidades cromossômicas, sendo as mais frequentes a translocação

t(1;22)(p13;q13), t(9;22), t(8;21), t(15;17), inversão do cromossomo 16 e t(16;16) e translocações envolvendo a banda 11q23 (Fig.3). Esta última ocorre em 50% dos lactentes e consiste na fusão do gene *MLL* a diversos genes (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2008).

Figura 3 – Principais anomalias cromossômicas linfoides e mieloides nos diferentes estágios de maturação hematopoética.



Fonte: Adaptado de Wiemels, J. (2012).

2.3- Incidência das leucemias na infância e adolescência

Na Europa, a taxa de incidência global de Leucemia Linfóide Aguda (LLA), de crianças na faixa etária entre 0 e 14 anos, é de 36 por milhão de crianças (Coebergh, 2006). A taxa é semelhante nos Estados Unidos, 38 por milhão (SEER, 2006). Em países africanos e asiáticos a incidência chega a ser 10 vezes menor (Greaves, 2006). As diferenças não são percebidas apenas geograficamente, mas também através de fatores étnicos, de acordo com o registro de câncer norte-americano, cujos dados de 2006 revelam taxas mais elevadas em crianças brancas frente às negras (SEER, 2006).

Os dados do último censo de 2010, realizado no Brasil, apontaram que o número de indivíduos menores de 19 anos corresponde a 40% da população total (IBGE, 2013). No mesmo ano, cerca de 10 mil casos novos de câncer acometeram crianças e adolescentes. Segundo dados do Globocan (2012), a taxa de incidência para ambos os sexos foi de 35 por milhão de crianças, sendo o câncer de maior incidência entre os menores de 15 anos (Tab. 1).

Tabela 1- Taxas de incidência de leucemia ajustadas por idade, para ambos os sexos, por 100.000, Brasil, Globocan, 2012.

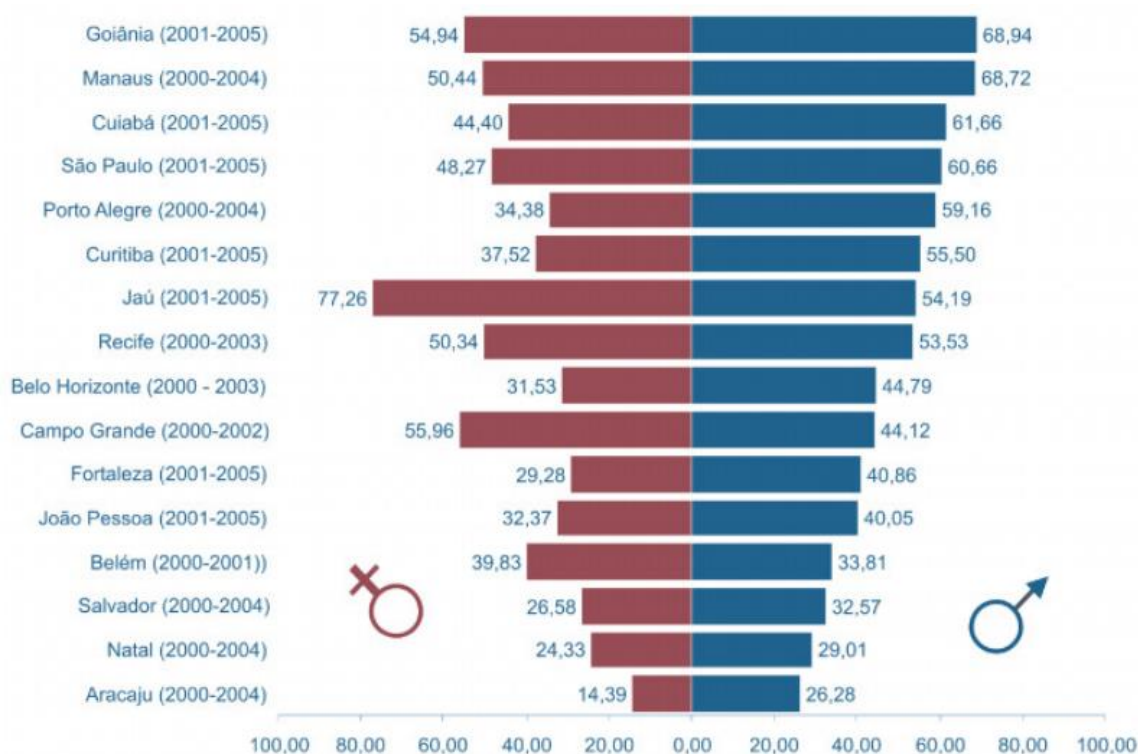
Cancer	Total	0-14	15-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75+	Crude	ASR(W)	Cum. [0-74]	ICD-10
All cancers excl. non-melanoma skin cancer	437592	12.4	43.6	150.8	239.4	365.0	531.9	747.3	1025.0	1339.6	1755.5	220.6	205.5	20.8	C00-97/C44
Bladder	9924	0.0	0.3	1.0	2.8	6.3	10.9	15.1	24.5	41.0	62.3	5.0	4.5	0.5	C67
Brain, nervous system	11737	2.4	2.3	5.1	7.3	10.1	13.3	16.7	20.3	24.1	28.2	5.9	5.7	0.6	C70-72
Colorectum	33949	0.0	1.8	10.4	17.9	27.6	39.7	57.9	84.5	118.9	161.1	17.1	15.8	1.8	C18-21
Gallbladder	4049	-	0.1	0.8	1.8	3.0	4.7	7.4	10.5	14.9	21.0	2.0	1.9	0.2	C23-24
Hodgkin lymphoma	2031	0.4	1.2	0.8	0.7	0.8	0.9	1.2	1.8	2.6	3.5	1.0	1.0	0.1	C81
Kaposi sarcoma	883	0.0	0.4	0.8	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5	1.1	2.4	0.4	0.4	0.0	C46
Kidney	6255	0.7	0.5	2.5	4.0	5.8	7.9	10.6	13.6	17.0	20.7	3.2	3.0	0.3	C64-66
Larynx	7131	-	0.1	1.6	4.3	8.9	13.2	15.7	19.1	21.1	20.9	3.6	3.4	0.4	C32
Leukaemia	8605	3.5	1.8	2.3	3.0	4.3	6.5	9.8	14.2	19.7	26.0	4.3	4.3	0.4	C91-95
Lip, oral cavity	10439	0.1	0.6	3.6	7.0	11.2	15.0	18.3	22.7	30.1	40.6	5.3	4.9	0.6	C00-08
Liver	9678	0.2	0.4	2.1	4.5	8.0	12.5	18.8	26.1	34.2	43.2	4.9	4.6	0.5	C22
Lung	34280	0.0	0.6	5.4	13.1	25.9	46.3	74.4	103.0	130.3	154.9	17.3	16.3	2.0	C33-34
Melanoma of skin	6172	0.1	1.0	2.8	3.7	4.9	6.2	7.3	11.2	18.2	28.1	3.1	2.8	0.3	C43
Multiple myeloma	3518	0.0	0.2	1.0	1.7	3.0	5.4	7.8	9.4	11.1	13.2	1.8	1.7	0.2	C88+C90
Nasopharynx	804	0.1	0.1	0.4	0.9	1.1	0.9	0.9	1.2	1.4	1.8	0.4	0.4	0.0	C11
Non-Hodgkin lymphoma	9215	0.8	1.9	4.0	5.4	7.4	10.1	13.1	17.3	22.5	28.8	4.6	4.4	0.5	C82-85,C96
Oesophagus	12907	0.0	0.3	3.7	7.9	13.3	19.7	27.1	33.4	40.4	47.7	6.5	6.1	0.7	C15
Other pharynx	5504	0.2	0.4	2.2	4.4	6.9	9.0	10.8	11.9	13.0	13.9	2.8	2.6	0.3	C09-10,C12-14
Pancreas	9871	0.0	0.2	1.9	4.4	7.7	12.1	17.6	25.1	36.5	52.1	5.0	4.6	0.5	C25
Stomach	19690	0.0	0.9	5.0	9.0	15.3	24.2	35.4	51.0	71.2	95.0	9.9	9.2	1.1	C16
Thyroid	13877	0.2	6.4	12.3	12.8	12.7	11.9	11.1	11.5	12.9	15.7	7.0	6.4	0.6	C73

Fonte: Globocan 2012, IARC.

De acordo com dados do Registro de Câncer de Base Populacional (RCBP), as taxas de incidência de leucemia variam por faixas etárias, por estados brasileiros e por sexo, sendo maior no sexo masculino em quase todas as localidades (Reis *et al.*, 2007).

As maiores taxas de incidência anual, ajustadas por idade, por milhão de crianças (até 18 anos), para o sexo masculino, ocorreram em Goiânia com 68,9, seguido por Manaus 68,7 e Cuiabá 61,7. Para o sexo feminino, as maiores taxas médias anuais foram encontradas em Jaú, Goiânia e Manaus, com 77,3, 54,9 e 50,4, respectivamente (Fig. 4). As diferenças podem ser também observadas no que diz respeito à sobrevida (INCA, 2010).

Figura 4 - Taxa de incidência de leucemias ajustadas por idade por 1.000.000 de crianças e adolescentes (menores de 19 anos) por RCBP do Brasil, 2010.



Fonte: INCA, 2010.

Um estudo realizado nos Estados Unidos com menores de 19 anos apontou que descendentes de asiáticos, de negros e de hispânicos possuem pior prognóstico quando comparados à população branca não-hispânica de mesma faixa etária (Goggins e Lo, 2012). Tais diferenças podem estar relacionadas a diversos fatores, dentre os quais diferentes métodos diagnósticos, falta de registros populacionais, fatores genéticos e nutricionais, ou ainda exposições ambientais distintas em países desenvolvidos e em desenvolvimento, uma vez que o status econômico se configura como um indicador de exposição à carcinógenos potenciais como a radiação e as substâncias químicas advindas da dieta (Edgar e Morgan, 2008).

2.4 – Contextualização histórica

Em 1971, Knudson divulga seu estudo com 48 crianças portadoras de retinoblastoma, onde defende a hipótese *Two-hits model*, pela qual a origem do câncer seria atribuída a um processo envolvendo mutações no período intrauterino (primeiro golpe) e no período 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 à herança germinativa ou mutação somática, apresentando-se nos seguintes grupos de comparação: em não afetadas, tumor unilateral e bilateral.

O estudo mostrou ainda que a gravidade da doença estaria 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 e 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 ensejavam o esclarecimento desse mecanismo. Nesse contexto foram elaboradas duas hipóteses explicativas acerca do processo etiopatogênico da leucemia infantil: a teoria de Kinlen e de Greaves.

2.4.1- Teoria da Mistura Populacional

Em 1983, nas cidades de Seascale e Thurso (Escócia), um grande número de casos de leucemia e linfomas não-Hodgkin surgiram (clusters), 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 fluxo populacional para tais cidades, essa mistura populacional (urbana e rural) incomum introduzira uma epidemia de infecções, cujas populações não haviam sido expostas a determinados agentes anteriormente, ou seja, em populações cujas crianças ficavam reclusas. Por se tratar de locais isolados, a comunidade residente desenvolveria sua imunidade de maneira mais vulnerável frente aos demais, contra uma determinada infecção viral. Neste sentido, os casos novos de leucemia seriam uma resposta rara a ocorrência destes episódios infecciosos.

2.4.2- Teoria das Mutações Pré e Pós-natal

No mesmo ano, 1988, 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, subsequentes 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 Glentworth, 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 de infecções comuns, em indivíduos não imunes a “mistura populacional”, sendo uma ocorrência não usual.

A ideia 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).

2.5 – Exposições Ambientais e as Leucemias

Por se tratar de uma doença com etiologia desconhecida, estudos têm sido realizados a fim de contribuir para a distinção dos fatores de risco ambientais, genéticos e/ou infecciosos. De acordo com Perera (1996), cerca de 5% dos cânceres possuem predisposição hereditária, no entanto, estima-se que 80 a 90% das neoplasias decorram de fatores ambientais (Armstrong e Boffeta, 1998; WHO, 2002).

Esses fatores envolvem o ambiente laboral (diversidade de exposições químicas, físicas e biológicas), o ambiente de consumo (contaminação química da água de beber, alimentos, pesticidas) e o ambiente cultural (fumaça do cigarro, no caso

de pais fumantes, consumo de medicamentos, álcool e drogas durante a gravidez, fumaça de exaustão de carros) (Wen *et al.*, 2002; Greaves, 2006; Belson *et al.*, 2007; INCA, 2012).

Em relação aos fatores genéticos e hereditários, o histórico familiar de câncer (HFC) vem sendo descrito como um fator importante para a etiologia das leucemias agudas infantis (Ripert *et al.*, 2007; Couto *et al.*, 2012). A localização do tumor dos parentes, o grau de parentesco e a quantidade de antecedentes de câncer apresentaram distintas associações para leucemia aguda infantil. Para parentes de segundo grau (avós, tios e primos) a magnitude associação foi de OR=1,66 (IC 95% 1,12-2,45) para LLA (Couto *et al.*, 2012).

Estudos recentes têm relatado a associação positiva entre o peso ao nascer elevado e o ganho ponderal materno na gestação e leucemias no lactente, observando-se um risco 28% maior para o desenvolvimento de leucemia em crianças com peso ao nascer superior a 3999 g (Koifman *et al.*, 2008; Metayer *et al.*, 2013).

Em relação à radiação, em 1979, um estudo publicado por Wertheimer e Leeper relatou a ocorrência de associação positiva entre a exposição domiciliar 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 os campos magnéticos de baixa frequência como possível carcinógeno humano, classe 2b (IARC, 2002).

Em se tratando de solventes orgânicos, o benzeno foi reconhecido como agente leucemogênico, classe 1 (IARC, 1987), no entanto, o mecanismo envolvido

permanece desconhecido. Em relação à embriotoxicidade ou a toxicidade hematopoiética induzida pelo benzeno, um estudo experimental animal realizado na China (Li *et al.*, 2015), sugere que o metabólito gerado pelo metabolismo do benzeno, a hidroquinona (HQ), atue inibindo a diferenciação e o crescimento de células hematopoiéticas do fígado fetal e da medula óssea. A enzima hepática Quinase B1 (LKB1), atua como regulador do metabolismo energético celular e, mais especificamente, da homeostase de células tronco hematopoiéticas. Foi observado que, as células-tronco do fígado fetal (FL-HSCs) e as células-tronco da medula óssea hematopoiéticas (BM-HSCs) dos camundongos sofreram modificações no ciclo celular e na apoptose após exposição a diferentes gradientes de concentração do metabólito HQ.

Ademais, diversos agentes químicos se apresentam como potencial efeito carcinogênico, mas não apresentaram evidências adequadas para a classificação de seus efeitos, favorecendo a liberação de sua exposição ocupacional e ambiental (IARC, 1987). Dentre estes, alguns pesticidas e compostos químicos utilizados em cosméticos alisantes e tinturas de cabelos.

Alguns estudos epidemiológicos têm demonstrado associação positiva entre a exposição a pesticida e o aumento de neoplasias hematopoiéticas em crianças, principalmente, leucemias e linfomas (Rudant *et al.*, 2007; Pombo-de-Oliveira e Koifman, 2006; Zahm e Ward, 1998). Durante a infância, a exposição a pesticidas pode ocorrer por meio de roupas de trabalho contaminadas dos pais, uso doméstico ou resíduos presentes em alimentos, água, ar e solo (Rudant *et al.*, 2007; Menegaux *et al.*, 2006). Em relação à exposição intrauterina, Ferreira e colaboradores (2013),

apresentaram resultados onde a exposição materna a pesticidas na gravidez, poderia associar-se à etiologia das leucemias em menores de 2 anos, aumentando este risco em cerca de 2 a 3 vezes, comparativamente com as mães que relatam ausência deste tipo de exposição. O uso ocupacional materno apresentou incremento de 5 a 22 vezes, para as leucemias agudas mieloides ou linfoides em menores de 2 anos.

Em relação aos cosméticos alisantes e tinutras de cabelos, um estudo realizado no Brasil (Couto *et al.*, 2013), revelou que um produto comercial, chamado de marca “B”, apresentando a seguinte composição: citronelol, linalol, propileno glicol, 2-oleamido-1,3-octadecanediol, trideceth-6, metilpropional, oleth-30, hydroxyisoheyl 3-ciclohexeno carboxaldeído, laureth-3, 2-metil-5-hidroxietilaminofenol, etanolamina, 2-amino-3-hidroxipiridina, cloreto cetrimônio, clorexidina dicloridrato, cloreto de hexadimetrina, m-aminofenol, p-aminofenol, butilfenilo, estanato de sódio, carbómero, alfa-isometil ionona, hidroxipropiltrimônio, poliquatérnio-22 e pirofosfato tetrassódico apresentando um aumento na estimativa de risco para LMA, OR ajustada= 12,5 (IC 95% 1,44–108,4). No período de amamentação, ainda para casos de LMA, foi observada OR ajustada=2,59 (IC 95% 1,01-6,70). Para portadores de LLA, o risco elevado para o uso destes produtos por mães foi observado durante o 1º trimestre de gestação, OR ajustada= 1,78 (IC 95% 1,13-2,81).

O consumo de medicamentos durante a gestação pode acarretar em diversos efeitos no conceito, como mal formações congênitas, baixo peso ao nascer e atrasos motores, além de perdas fetais (D’Apolito, 1998; Wen *et al.*, 2002, Wiemels, 2012; Gontijo, 2015). Um estudo retrospectivo conduzido no Brasil com 1000 puérperas, entrevistando as mães logo após o parto, mostrou que 94,6% destas tomaram ao

menos um medicamento durante a gravidez. As classes de medicamentos mais usados foram: analgésicos, antiespasmódicos, antiinfeciosos ginecológicos, antianêmicos, antiácidos e antibióticos sistêmicos. E estes, foram ainda agrupados em categorias de risco de acordo com a agência norte-americana *Food and Drug Administration* (FDA). Aproximadamente 45% dos medicamentos utilizados pelas mães foram categorizados como C (os riscos não podem ser excluídos, mas os benefícios superam riscos potenciais), D (evidência de risco fetal) e X (nocivo para o feto). Dentre os quais, dipirona e ácido acetilsalicílico (Fonseca *et al.*, 2002).

Um estudo caso-controle 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 e Koifman, 2006). Enquanto um estudo norte-americano apontou que o uso de anfetaminas, pílulas dietéticas e drogas psicotrópicas poderiam aumentar o risco de leucemia na infância (Wen *et al.*, 2002).

Diante disso, a classe de fármacos mais utilizada pelas gestantes, os analgésicos, foram investigados em um estudo brasileiro acerca da associação com leucemias em menores de 2 anos (Couto *et al.*, 2015). O uso exclusivo de dipirona durante a gestação apresentou incremento no risco para leucemias linfocíticas agudas, nos períodos pré-concepcional, OR=1,63 (IC95% 1,06-2,53) e durante a amamentação, OR=2,00 (IC 95% 1,18-3,39). A utilização de paracetamol durante o primeiro trimestre de gravidez mostrou OR=0,39 (IC 95% 0,17-0,93) para LLA e OR=0,37 (IC 95% 0,16-0,88) para uso no segundo trimestre. Para LMA, foi encontrada OR=0,11 (IC 95% 0,02-0,97) sendo o uso realizado no segundo trimestre. Tais resultados sugerem que o uso

de paracetamol durante a gravidez pode proteger contra o desenvolvimento de leucemias agudas na infância, enquanto o uso da dipirona pode atuar como um fator de risco.

Outro estudo brasileiro (Gontijo *et al.*, 2015) relatou que os grupos farmacológicos mais prescritos durante a gravidez foram fármacos que atuam sobre o sistema hematopoiético (89,01%). Couto e colaboradores (dados não publicados) sugerem que o uso de suplementos de ferro possa reduzir o risco de LLA em todos os períodos gestacionais, especialmente no 1º trimestre OR ajustada=0,57 (IC 95% 0,34-0,95).

2.5.1- Consumo de fumo

O tabaco, cujo nome científico é *Nicotiana tabacum* ou *Nicotiana rustica*, possui esta variação de espécie devido à origem da semente e seus produtos compreendem os artefatos derivados da folha desta planta utilizados para mascar, chupar, apsirar ou tragar. Assim, a utilização do tabaco difere entre culturas e países, bem como a sua finalidade (IARC, 2004). Contudo, foi apenas em torno de 1840, na França, que o cigarro foi inventado.

O tabagismo é considerado uma doença crônica e epidêmica gerada pela dependência à nicotina, estando incluído na Classificação Internacional de Doenças (CID 10) da OMS, tanto o uso do tabaco (Z72.0) quanto seu abuso (F17). A referida substância causa dependência física, química e psicológica, uma droga psicoativa lícita capaz de interferir no comportamento e no organismo em geral (Marques *et al.*, 2001).

A prevalência de fumo mundial é de cerca de 1 bilhão de pessoas (WHO, 2009). O consumo tabágico está associado à elevada morbimortalidade, sendo responsável por aproximadamente cinco milhões de mortes ao ano (Barros *et al.*, 2011). Em 2003, foi considerada pela OMS a maior causa de morte evitável e de maior crescimento no mundo (OMS, 2003), sendo fator de risco para seis das oito principais causas de morte, matando uma pessoa a cada seis segundos (OMS, 2008).

No Brasil, dados do Inquérito Domiciliar realizado em 2008, indicaram a prevalência do fumo diário de 17,52% para indivíduos de 15 anos ou mais, o que representa em torno de 25 milhões de pessoas (IBGE, 2008). Assim como em outros países em desenvolvimento, os prejuízos associados ao consumo de tabaco agravam os demais problemas de saúde como desnutrição, doenças infectocontagiosas ainda não controladas, deficiência de saneamento e de suprimento de água (INCA, 2001).

Os primeiros estudos epidemiológicos publicados na década de 50 apontaram associação causal entre o fumo e câncer de pulmão, assim como outros vinte tipos de tumores (Secretan *et al.*, 2009), bronquite crônica e doenças cardíacas isquêmicas (Mackay e Eriksen, 2002).

Atualmente, o cigarro contém mais de 4.000 substâncias químicas e metais tóxicos, incluindo alumínio, amônia, arsênico, benzeno, DDT, dieldrin, monóxido de carbono, dióxido de carbono, clorofórmio, formaldeído, chumbo, alcatrão e cloreto de vinila (IARC, 2004).

Dentre tais substâncias, mais de 40 componentes químicos são carcinogênicos (Hecht, 1999; Chang *et al.*, 2006; Thielen *et al.*, 2008), 20 envolvidos provavelmente com o câncer de pulmão observado em estudos animais experimentais (Hecht, 1999),

e 11 considerados carcinogênicos humanos (IARC, 2004). Ainda inclusos no cigarro estão substâncias como benzeno (Korte *et al.*, 2000; Hoffmann *et al.*, 2001), arsênico (Yang, 2011), metais (Yang, 2011) e pesticidas (Rahman *et al.*, 2012).

Há evidências de aumento no risco para os cânceres de pulmão, laringe, cabeça e pescoço, bexiga, esôfago, pâncreas, estômago e rins devido ao consumo de tabaco (Kuper *et al.*, 2002; Ministério da Saúde, 2011). O fumo poderia ainda estar associado ao incremento no risco de leucemia mieloide e cânceres infantis, entre outros, sendo observado efeito protetor para o câncer de endométrio (Lindemann *et al.*, 2008).

O fumo pode acarretar diversas consequências ao conceito, dentre as quais o baixo peso, anomalias placentárias, prematuridade, maiores taxas de aborto, aumento na mortalidade infantil e retardo no crescimento pós-natal (Tedesco, 2000). Entretanto, a associação entre fumo materno durante a gravidez e o aumento no risco de leucemias em lactentes é ainda inconsistente.

A enzima citocromo P450 e a enzima NQO1 estão envolvidos na ativação do benzeno e outros metabólitos de xenobióticos, detoxificando benzoquinonas e reativando compostos intermediários do benzeno (Zhang *et al.*, 2010). Um estudo conduzido na China apontou aumento no risco de desenvolver leucemia para indivíduos portadores de mutação em NQO1 $^{609}\text{C}\rightarrow\text{T}$, quando estes estavam expostos ocupacionalmente ao benzeno, OR = 7,6 (IC 95% 1,8-31,2) (Rothman *et al.*, 1997).

A nicotina atravessa a placenta rapidamente e a concentração no conceito é 15 vezes mais elevada frente ao materno (Lambers e Clark, 1996). Entretanto, um estudo norte americano não observou associação entre a exposição materna ao fumo e

o aumento no risco de leucemias em crianças (Chang *et al.*, 2006). O fumo paterno durante o período pré-concepcional mostrou estimativas de risco elevadas para LMA, OR = 3,84 (IC 95% 1,04-14,17). Quando combinado ao consumo materno de fumo durante a amamentação, a estimativa de risco aumentou.

Assim, o mecanismo biológico do efeito tabágico materno estaria mais relacionado com o período pós-natal, enquanto que, o paterno estaria associado ao período pré-concepcional, devido ao dano oxidativo ao DNA das células do esperma (Kuper *et al.*, 2002). Além disso, alguns estudos sugerem que componentes da fumaça do cigarro atravessam a barreira transplacentária, alcançando a corrente sanguínea fetal (Meberg *et al.*, 1979). Em animais de laboratório, a carcinogênese transplacentária foi demonstrada (Nicolov e Chernozemsky, 1979).

2.5.2- Consumo de Álcool

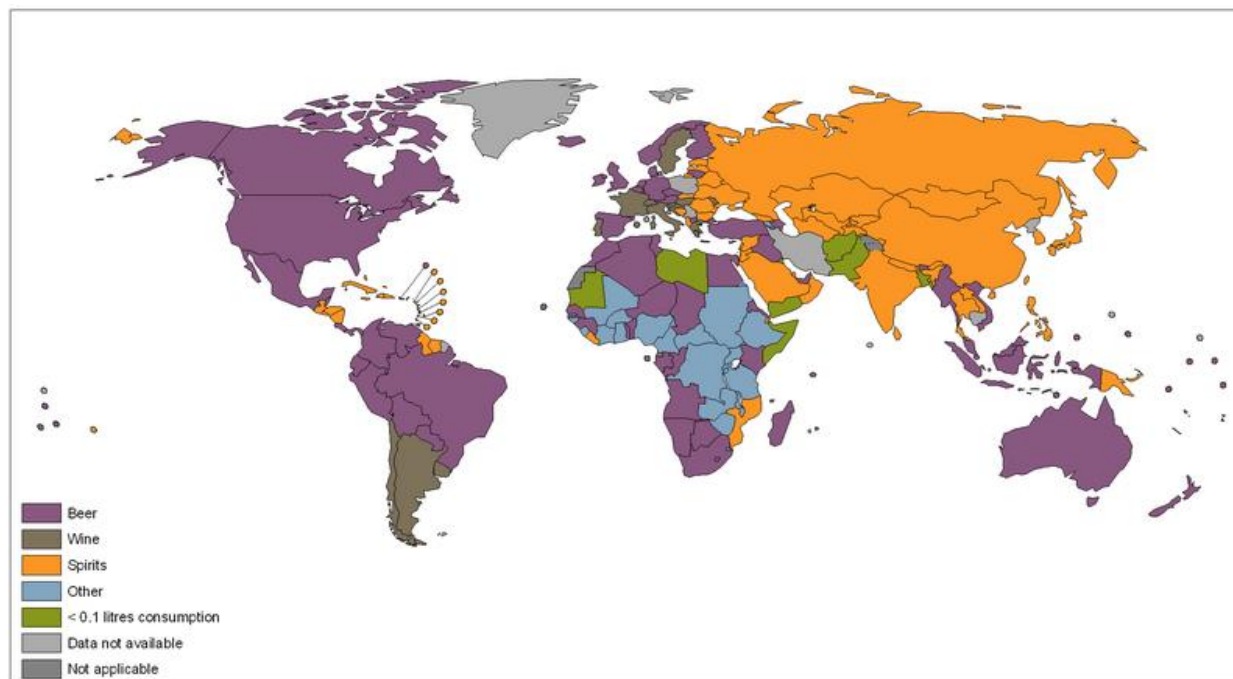
O uso de álcool está inserido na Classificação Internacional de Doenças (CID 10) da OMS (Z72.1), no capítulo acerca de problemas de saúde relacionados ao estilo de vida, bem como nos transtornos mentais e comportamentais devido ao seu uso.

É uma das poucas drogas psicotrópicas de consumo legalizado e socialmente aceito no mundo. De acordo com dados da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, os problemas advindos ao consumo excessivo de bebidas alcoólicas custam mais de um milhão de dólares por mês à saúde pública (Grinfeld, 2009).

Ao que se refere ao tipo de bebida alcoólica, dados de 2005 da OMS apontam que a distribuição está muito relacionada à produção. Em algumas localidades, como

Chile e Argentina e alguns países europeus observa-se um consumo mais elevado de vinho, enquanto Brasil e América do Norte cerveja, e outros países europeus e asiáticos, bebidas destiladas (Fig. 5).

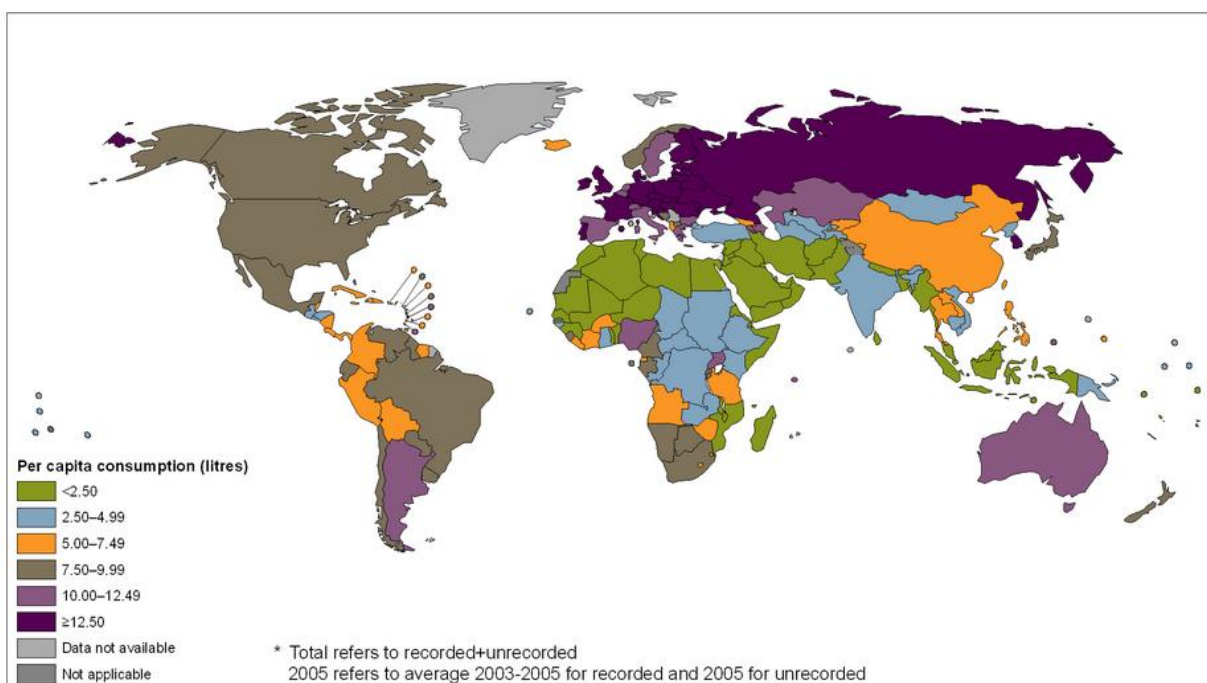
Figura 5 – Principais tipos de bebidas alcoólicas consumidas (em litros), 2005.



Fonte: World Health Organization, 2010.

A média mundial de consumo de álcool calculada pela OMS (2010) é de 6,2 litros per capita/ano para a população com 15 anos ou mais. Estimou-se que, a população brasileira, na mesma faixa, consumiu em média 8,7 (fig. 6), acima da média mundial e, tem se mantido estável nos anos de 2008 a 2010. A Europa é o continente com maior consumo, cerca de 11 litros por ano (OMS, 2010).

Figura 6 – Consumo de álcool puro per capita total em adultos na população mundial em 2005.



Fonte: World Health Organization, 2010.

Segundo dados do Inquérito Domiciliar realizado no Brasil em 2002-2003, referente aos comportamentos de risco e morbidade referida, o consumo de álcool relatado (ao menos uma dose nos últimos 30 dias) variou entre 32 e 58% em indivíduos com 15 anos ou mais (INCA, 2004).

Contudo, a faixa etária que apresentou o consumo mais elevado foi a compreendida entre 25 e 49 anos, coincidentemente com a principal faixa etária reprodutiva feminina. Esse resultado foi observado em todas as capitais. A prevalência de consumo de bebidas alcoólicas para o sexo feminino variou entre 19,7 e 47,5%, independente da idade (INCA, 2004).

O sexo feminino tem maior biodisponibilidade ao álcool frente aos homens, visto que em sua constituição corpórea, as mulheres apresentam maior proporção de gordura e menor quantidade de água total no organismo e, conseqüentemente maior absorção do álcool. Ou seja, as concentrações séricas de etanol são maiores na mulher que no homem considerando um consumo análogo (Grinfeld, 2009).

Em relação aos fatores comportamentais maternos, o consumo de álcool durante o período pré-concepcional e gestacional pode acarretar em alterações do DNA fetal. Uma vez que, o etanol atravessa a placenta e é considerado uma substância teratogênica que produz deficiências no crescimento pré e pós-natal (Clarren, 1978; Obe e Ristow, 1979).

As concentrações de álcool foram observadas no líquido amniótico fetal sendo similares àquelas encontradas no sangue materno, isto é, a alcoolemia¹ fetal é semelhante à materna (Burd *et al.*, 2012; Kvigne *et al.*, 2012). Acredita-se que o álcool promoveria vasoconstrição no cordão umbilical e na placenta, incrementando a duração da exposição fetal devido à redução do fluxo sanguíneo (Burd, 2008; Burd *et al.*, 2007).

Ademais, a atividade da enzima álcool desidrogenase é cerca de 10 vezes menor no feto comparadamente aos adultos. Então, o consumo de álcool materno produz uma exposição fetal prolongada e, conseqüentemente, uma série de danos.

Antes das vinte semanas de gestação, a pele do concepto poderia absorver o álcool, embora essa evidência seja ainda controversa. Fato que não ocorre após a 24^a

¹ Alcoolemia compreende a quantidade em gramas por litro de álcool ingerido dividido pelo peso do indivíduo multiplicado pelo fator R, sendo R constante que se refere à repartição de álcool pelo corpo. Atribui-se 0,7 para o sexo masculino; 0,6 para o feminino; e 1,1 às refeições. A quantidade de álcool em g/l é obtida por meio do percentual alcoólico, volume ingerido e densidade do álcool 0,8 g/cm³.

semana, pois esta se encontra mais queratinizada, podendo limitar a absorção de álcool. O líquido amniótico ingerido pelo conceito contendo o álcool é absorvido, atingindo a circulação fetal, e posteriormente, o transfere para a circulação materna, o que parece ser um mecanismo de eliminação do álcool contido no líquido amniótico (Burd, 2008; Burd *et al.*, 2007).

No entanto, esse processo pode durar cerca de três horas, mesmo após a ingestão de apenas uma dose de bebida alcoólica. É provável que o líquido amniótico da gestante alcoolista transforme-se em um reservatório de etanol, pois o nível de etanol permanece elevado por mais tempo no líquido amniótico que no sangue materno (Burd, 2008; Burd *et al.*, 2007).

Os danos pré-natais podem ser citotóxicos ou mutagênicos. No 1º trimestre, observa-se risco de malformações e dismorfismo facial, pois se trata de fase crítica para a organogênese; no 2º semestre, elevada incidência de abortos espontâneos; e, no 3º trimestre, acometimento do sistema nervoso, como o cerebelo, o hipocampo e o córtex pré-frontal. Pode ainda ocasionar retardo no crescimento intra-uterino, descolamento prematuro de placenta, hipertonia uterina e trabalho de parto prematuro. A proporção de transferência de etanol para o leite materno é de aproximadamente 2% da alcoolemia materna (Grinfeld, 2009).

O acetaldeído, metabólito tóxico resultante do metabolismo do etanol no fígado, tem papel relevante como promotor tumoral na carcinogênese em animais (Hamby-Mason, 2001; Homann, 2001).

Outro possível mecanismo relatado na literatura, o álcool, induziria morte celular por apoptose, aumentando o estresse oxidativo e, efeitos na adesão celular.

Estes facilitariam a passagem de outras substâncias carcinogênicas na célula, gerando danos mitocondriais, interferência nos fatores de crescimento de células gliais, perda da função de mensageiros químicos envolvidos na comunicação neuronal, modificações na atividade de gens durante desenvolvimento, e inibição da síntese e reparo de DNA (Goodlett e Horn, 2001; Anderson *et al.*, 1995; Lieber *et al.*, 1979; Mufti *et al.*, 1989).

Todavia, a associação entre o consumo etílico materno e leucemias em lactentes ainda é controverso. Foram encontradas associações estatisticamente significativas para as LLA (OR=2,0 IC 95% 1,4-3,0) e não-LLA (OR=2,6 IC 95% 1,2-5,8). Nas LLA, as estimativas de risco, segundo tipos de bebidas, ingeridos na gestação, apresentaram incremento para o consumo de vinho OR=1,4 (IC 95% 1,0-2,1), de cerveja OR=1,4 (IC95%0,9-2,3), e de bebidas destiladas OR=1,8 (IC 95% 1,3-2,9) (Menegaux *et al.*, 2005). Menegaux *et al.* (2007), apontam associação tanto para o conjunto de leucemias (OR=2,4 IC 95% 1,1-5,0) quanto para as LLA (OR=2,8 IC 95% 1,3-5,9) na presença de relato de consumo alcoólico materno superior a um copo por dia durante a gestação.

Outros estudos corroboram estes achados (Severson *et al.*, 1993; Van Duijn *et al.*, 1994; Cnattingius *et al.*, 1995; Shu *et al.*, 1996; Rudant *et al.*, 2008; MacArthur *et al.*, 2008). Contudo, a associações inversas também foram observadas (Slater *et al.*, 2011; Infant-Rivard *et al.*, 2002), bem como a presença ou ausência de associação (Petridou *et al.*, 1997; Schüz *et al.*, 1999).

2.5.3- Exposições Ocupacionais

Doll e Peto (1981), conduziram um estudo norte-americano sobre o efeito da ocupação e a relação com todos os tipos de câncer e, concluíram que 4% da incidência destes poderiam ser atribuíveis às exposições ocupacionais, com uma variação entre 2% e 8%. Estudos mais recentes têm apresentado diferentes proporções, no entanto, o ponto central dessa discussão é que o câncer decorrente do ambiente ocupacional pode deixar de ocorrer se tais riscos forem reduzidos ou eliminados, após terem sido identificados (Koifman *et al.*, 2013).

Em termos de legislação no Brasil, a Portaria do MS/GM nº 1.339, de 1999, reconhece 11 tipos de câncer como resultantes da exposição ocupacional (Ministério da Saúde, 1999), dentre os quais as leucemias (C91, C95). Os agentes etiológicos ou fatores de risco de natureza ocupacional descritos em lei compreendem o benzeno, as radiações ionizantes, o óxido de etileno, os agentes antineoplásicos, os campos eletromagnéticos e os agrotóxicos clorados (clordane e heptaclor).

Contudo, a legislação específica do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE) proíbe somente o uso de quatro substâncias cancerígenas: 4-aminodifenil, benzidina, beta-naftilamina e 4-nitrodifenil. Ou seja, outros 15 agentes reconhecidamente cancerígenos, como o benzeno, o amianto e a sílica, estão entre os que possuem exposições toleradas, mesmo com resultados de estudos desenvolvidos em populações e territórios distintos em todo o mundo, sugerindo a associação entre o ambiente de trabalho e diversos tipos de câncer. O atual conhecimento científico sobre

carcinogênese não reconhece “limites de tolerância”, isto é, limites seguros para a exposição do trabalhador a quaisquer cancerígenos (INCA, 2012).

Outro agravante, é que muitos desses produtos químicos utilizados no local de trabalho não foram avaliados para toxicidade reprodutiva. E, determinados compostos que são capazes de provocarem efeitos reprodutivos e alterações no desenvolvimento, ainda se encontram em uso regular nos ambientes de trabalho (Koifman *et al.*, 2013).

O primeiro estudo que levantou a hipótese ocupação paterna na ocorrência de patologias malignas na infância data dos anos 70 (Fabia e Thuy, 1974). Se, alguns ambientes de trabalho são insalubres aos trabalhadores, estes podem ainda transportar para a residência resquícios de produtos e/ou substâncias por meio de roupas, sapatos ou a própria pele (Deziel *et al.*, 2015).

O mecanismo de carcinogênese ainda é desconhecido, porém no domicílio, a exposição fetal pode ser ocasionada pela via transplacentária devido à exposição materna. Adicionalmente, determinadas exposições ocupacionais podem levar a alterações genéticas nas células reprodutoras masculinas antes da concepção, afetando diretamente a susceptibilidade do recém-nascido às exposições pós-natais (Mc Kinney *et al.*, 2003).

Um estudo de coorte realizado em Taiwan (Sung *et al.*, 2008) apontou maior risco para desenvolvimento de leucemias para os filhos de mulheres expostas durante o período pré-concepcional a solventes orgânicos RR= 3,83 (IC 95% 1,17-12,55).

Em relação à exposição paterna, Feychting e colaboradores (2001) observaram que a ocupação envolvendo poeira de madeira estava associada a um incremento no risco de leucemias (RR=2,18; IC 95% 1,26-3,78). Mc Kinney e colaboradores (2003)

descreveram a associação observada em seu estudo entre a leucemia infantil e a exposição ocupacional paterna durante o período pré-concepcional para os gases de escape, da condução e / ou hidrocarbonetos de partículas inaláveis.

A Tabela 2 apresenta os estudos realizados em distintas populações acerca dos fatores de risco e a associação entre as exposições ocupacionais maternas e paternas e as leucemias agudas infantis. Para a confecção da mesma, considerou-se o período de 1985 a 2015 para busca nas bases de dados MEDLINE e CAPES com os seguintes descritores, *paternal occupations and childhood leukemia*, *maternal occupations and childhood leukemia*, *parental occupations and childhood leukemia*, *paternal occupations and infant leukemia*, *maternal occupations and infant leukemia* e *parental occupations and infant leukemia*. Foram encontradas 141 publicações, após a exclusão dos artigos repetidos. Destes, procedeu-se a leitura das 55 publicações na íntegra.

Tabela 2 – Estudos sobre fatores de risco ocupacionais paternos e/ou maternos durante a gestação e leucemias na infância, publicados no período entre 1985 e 2015.

Referência, local	Tipo de estudo	Fatores de risco ocupacionais observados	Associação Materna	Associação Paterna
van Steensel-Moll HA, Valkenburg HA, van Zanen GE. Holanda, 1985.	Caso-controle	- Tintas; - Derivados do petróleo; - Substâncias químicas inespecíficas.	- Tintas, derivados do petróleo e outras substâncias químicas: OR=2,4 (IC 95% 1,2-4,6) durante a gestação.	
Lowengart	Caso-	- Solventes	- Serviço pessoal:	Período perinatal:

RA, Peters JM, Cicioni C, Buckley J, Bernstein L, Preston-Martin S, Rappaport E. EUA, 1987.	controle	clorados; - Tinta spray; - Tinturas ou pigmentos; - Metiletilcetona; - Óleo de corte; - Pesticidas - Incenso.	OR= 2,7, p=0,04. Ambos (materna e paterna): - Pesticidas em casa: OR= 3,8, p= 0,004; - Pesticidas no jardim: OR= 6,5, p= 0,007; - Uso de incenso em casa: OR= 2,7, p= 0,007.	- Solventes clorados: OR= 3,5, p= 0,01; - Tinta spray: OR= 2,0, p= 0,02; - Tinturas ou pigmentos: OR= 4,5, p= 0,03; - metil etil cetona: OR= 3,0; p= 0,05; - óleo de corte: OR= 1,7, p=0,05 - indústrias de fabricação de equipamentos de transporte (principalmente aviões): OR=2,5, p=0,03; - indústrias de fabricação de máquinas: OR= 3,0, p= 0,02. Durante a gravidez: - tinta spray: OR= 2,2, p= 0,03.
Shu XO, Gao YT, Brinton LA, Linet MS, Tu JT, Zheng W, Fraumeni JF Jr. China, 1988.	Caso-controle	- Radiação ionizante; - Indústrias químicas; - Indústrias agrícolas; - Indústrias metalúrgicas;	Leucemias agudas não linfocíticas: - Metais: OR= 4,6 (IC 95% 1,3-17,2) LLA: - Pesticidas: OR=3,5 (IC 95% 1,1-11,2)	
Buckley JD, Robison LL, Swotinsky R, Garabrant DH, LeBeau M, Manchester P, Nesbit ME, Odom L,	Caso-controle	- Solventes; - Pesticidas; - Materiais plásticos; - Tintas; - Óleos; - Metais; - Materiais para isolamento; -Radiação	Pré-concepcional: - Tintas: OR = 2,3 p< 0,05; - Poeiras metálicas OR= 5,5 p< 0,05; Durante a gestação: - Pesticidas: OR= 6,0 p< 0,05; Pós-natal:	Período perinatal: - Solventes: 1-1000 dias, OR = 2,6 (IC 95% 1,3-5,5). > 1000 dias, OR = 2,0 (IC 95% 1,2-3,8); - Derivados de petróleo >1000

Peters JM, Woods WG, et al. Estados Unidos e Canadá, 1989.		ionizante e não ionizantes.	- Pesticidas: OR= 7,0 p< 0,05; paterno 6,0 p < 0,5 chumbo;	dias, OR = 2,4 (IC 95%1,3-4,1); Pré-concepcional: - Solventes: OR= 2,2 p< 0,05; - Derivados do Petróleo: OR=2,0 p< 0,05; Durante a gestação: - Solventes: OR= 2,1 p< 0,05; - Derivados do petróleo: OR=2,8 p< 0,05 petróleo;
Kobaashi N, Hanawa Y, Nagahara N, Akatsuka J, Matsui I. Japão, 1990.	Correlação	- Radiação; - Substâncias químicas.	Associação nula para exposições maternas durante a gestação.	Associação nula para exposições paternas durante a gestação.
McKinney PA, Alexander FE, Cartwright RA, Parker L. Inglaterra, 1991.	Caso-controle	- Madeira; - Radiação; - Benzeno.	Materna: Pré-concepcional: - Indústrias alimentícias: OR= 2,56 (IC95% 1,32-5,00).	Pré-concepcional: - Poeira de Madeira: OR= 2,73 (IC95% 1,44-5,16) - Radiação: OR= 3,23 (IC95% 1,46-7,72) - Benzeno: OR= 5,81(IC95% 1,67-26,44).
Urquhart JD, Black RJ, Muirhead MJ, Sharp L, Maxwell M, Eden OB, Jones DA. Escócia, 1991.	Caso-controle	- Radiação ionizante; - Medicamentos; - Infecções virais.	Associação nula para exposições maternas pré-concepcionais, durante a gestação ou pós-natal.	Associação nula para exposições paternas pré-concepcionais, durante a gestação ou pós-natal.
Gardner, MJ. Reino Unido, 1991.	Caso-controle	- Radiação ionizante.		- Radiação ionizante cumulativa ≥ 100 mSv: OR=8,4

				(IC95% 1,4-52,0).
Kristensen P, Andersen A. Noruega, 1992.	Coorte	- Tintas.		- Tintas: OR= 0,58 (CI95% 0,25-1,14)
Feingold L, Savitz DA, John EM. EUA, 1992.	Caso-controle	- Hidrocarbonetos		Para LLA: - Anilina: OR= 2,1 - Benzeno: OR= 1,6 - Derivados de petróleo: OR= 1.6 * IC 95% sem significância estatística
Sorahan T, Roberts PJ. Reino Unido, 1993.	Caso-controle	- Radiação ionizante		- radionuclideo: OR=2,87 (IC95% 1,15-7,13)
Kinlen LJ, Clarke K, Balkwill A. Escócia, 1993.	Caso-controle	- Radiação ionizante		Associação nula para exposição paterna em qualquer nível de exposição ou período.
McLaughlin JR, King WD, Anderson TW, Clarke EA, Ashmore JP. Canadá, 1993.	Caso-controle	- Radiação ionizante		Associação nula para exposição paterna em qualquer nível de exposição ou período.
Parker L, Craft AW, Smith J, Dickinson H, Wakeford R, Binks K, McElvenny D, Scott L, Slovak A. Reino Unido, 1993.	Coorte-retrospectivo	- Radiação ionizante		Associação nula para exposição paterna em qualquer nível de exposição ou período.
Wakeford R, Parker L. Reino Unido,	Coorte	- Radiação ionizante		Associação nula para exposição paterna em

1996.				qualquer nível de exposição ou período.
Kinlen L. Escócia, 1997.	Coorte histórico	- Contato Social		Taxa de observados/esperados apresentou magnitude superior a 1,00 quando a categoria de baixa ou média exposição foi comparada a alta e muito alta exposições ao contato social ocupacional paterno.
Pobel D, Viel JF. França, 1997.	Caso- controle	- Radiação ionizante		Associação nula para exposição paterna em qualquer nível de exposição ou período.
Draper GJ, Little MP, Sorahan T, Kinlen LJ, Bunch KJ, Conquest AJ, Kendall GM, Kneale GW, Lancashire RJ, Muirhead CR, O'Connor CM, Vincent TJ. Reino Unido, 1997.	Caso- controle	- Radiação ionizante		Associação nula para exposição paterna em qualquer nível de exposição ou período.
Fear NT, Roman E, Reeves G, Pannett B. Reino Unido, 1998.	Caso- controle	- Pesticidas		Associação nula para exposição paterna em qualquer nível de exposição ou período.
Sorahan T,	Caso-	- Campos	Associação nula	

Hamilton L, Gardiner K, Hodgson JT, Harrington JM. Inglaterra, 1999.	controle	magnéticos de extrema baixa frequência (ELF- MFs).	para exposição materna a ELF- MFs.	
Roman E, Doyle P, Maconochie N, Davies G, Smith PG, Beral V. Reino Unido, 1999.	Coorte	- Radiação ionizante		Pré-concepcional: - Radiação ionizante ≥ 100 mSv: RR= 5,8 (IC95% 1,3-24.8)
Fear NT, Roman E, Reeves G, Pannett B. Reino Unido, 1999.	Coorte histórico	- Contato Social		Associação nula para exposição paterna
Shu XO, Stewart P, Wen WQ, Han D, Potter JD, Buckley JD, Heineman E, Robison LL. EUA, 1999.	Caso- controle	- Hidrocarbonetos	Para LLA: Qualquer período: - Materiais plásticos (policloreto de vinila, poliestireno, polietileno, poliuretano): OR= 2,3 (IC95% 1,2-4,4). - Outros materiais plásticos: OR= 5,1 (1,1-24,2). Pré-concepcional: - Possíveis solventes orgânicos: OR= 2,0 (IC95% 1,2-3,5). - Solventes (tetracloro de carbono, tricloroetileno,	Para LLA: Qualquer período: Associação nula para quaisquer exposições. Pré-concepcional: - Poliestireno: OR= 2,14 (IC95% 1,2-4,8). Durante a gestação: - Aguarrás: OR= 1,7 (IC95% 1,1-2,8) Pós-natal: Associação nula para todas as exposições.

			percloroetileno, metil etil cetona, benzeno, tolueno, freon, solventes clorados, solventes orgânicos não clorados, possíveis solventes orgânicos, nafta): OR= 1,8 (IC95% 1,3-2,5). - Tintas: OR= 1,9 (IC95% 1,2-3,1). - Tintas ou diluentes (tintas, sprays, tintas de impressão, laca, aguarrás, removedor, diluente, diluente de laca): OR= 1,6 (IC95% 1,2-2,2). Durante a gestação: - Solventes (tetracloreto de carbono, tricloroetileno, percloroetileno, metil etil cetona, benzeno, tolueno, freon, solventes clorados, solventes orgânicos não clorados, possíveis solventes orgânicos, nafta): OR= 1,6 (IC95% 1,1-2,3). - Tintas: OR= 2,0 (IC95% 1,2-3,5). - Aguarrás: OR= 3,5 (IC95% 1,3-	
--	--	--	--	--

			10,0). - Removedor: OR= 5,2 (IC95% 1,7-15,8) - Diluente: OR= 3,3 (IC95% 1,5-7,1) - Tintas ou diluentes (tintas, sprays, tintas de impressão, laca, aguarrás, removedor, diluente, diluente de laca): OR= 1,7 (IC95% 1,2-2,3). Pós-natal: Associação nula para quaisquer exposições.	
Meinert R, Kaletsch U, Kaatsch P, Schüz J, Michaelis J. Alemanha, 1999.	Caso-controle	- Radiação Ionizante.		- Radiação Ionizante ocupacional 1 ano antes da concepção: OR= 2,74 (IC95% 1,01-7,44). - Raio-x 2 anos antes do nascimento em qualquer parte do corpo: OR= 1,33 (IC95% 1,10-1,61).
Wen WQ, Shu XO, Steinbuch M, Severson RK, Reaman GH, Buckley JD, Robison LL. EUA, 2000.	Caso-controle	- Serviço militar em Vietnã ou Camboja.		LLA: Associação nula para quaisquer períodos de exposição. LMA: - Serviço no Vietnã ou Camboja $\leq$ 1 ano: OR= 2,4 (IC95% 1,1-5,4). - Intervalo de

				serviço >15 anos até a concepção: OR= 4,7 (IC95% 1,2-18,3). - Crianças portadoras de LMA < 2 anos: OR= 4,6 (IC95% 1,3-16,1).
Feychting M, Floderus B, Ahlbom A. Suécia, 2000.	Coorte	- Campos magnéticos	Associação nula para quaisquer períodos de exposição.	- $\geq 0,3 \mu T$: RR= 2,0 (IC95% 1,1-3,5).
Meinert R, Schüz J, Kaletsch U, Kaatsch P, Michaelis J. Alemanha, 2000.	Caso-controle	- Pesticidas	- Fazendeiras, jardineiras ou floristas: OR = 1,3 (IC95% 0,6-2,9)	- Fazendeiros, jardineiros ou floristas: OR = 1,5 (IC95% 1,0-2,4)
Heacock H, Hertzman C, Demers PA, Gallagher R, Hogg RS, Teschke K, Hershler R, Bajdik CD, Dimich-Ward H, Marion SA, Ostry A, Kelly S. Canadá, 2000.	Coorte	- Fungicidas clorofenóis e dioxina em serraria		Associação nula para quaisquer períodos de exposição.
Schüz J, Kaletsch U, Meinert R, Kaatsch P, Michaelis J. Alemanha, 2000.	Caso-controle	- Hidrocarbonetos	Paterna e Materna: LLA: Qualquer período: - Tintas ou lacas: OR= 1,8 (IC95% 1,2-2,6) Pré-concepcional: - Tintas ou lacas: OR= 1,6 (IC95% 1,1-2,4)	Paterna e Materna: LLA: Qualquer período: - Tintas ou lacas: OR= 1,8 (IC95% 1,2-2,6) Pré-concepcional: - Tintas ou lacas: OR= 1,6 (IC95% 1,1-2,4)

			Durante a gestação: - Tintas ou lacas: OR= 2,0 (IC95% 1,2-3,3) Pós-natal: Associação nula para quaisquer exposições.	Durante a gestação: - Tintas ou lacas: OR= 2,0 (IC95% 1,2-3,3) Pós-natal: Associação nula para quaisquer exposições.
Feychting M, Plato N, Nise G, Ahlbom A. Suécia, 2001.	Coorte	- Asbesto; - Pesticidas; - Cromo/níquel; - Óleo; - Substâncias químicas; - Solventes; - Compostos metálicos; - Benzeno; - hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs); - Chumbo; - Poeira de tecidos; - Poeira de madeira; - Vendas; - Trabalhos administrativos.		Pré-concepcional: - Poeira de madeira: RR= 2,18 (IC95% 1,26-3,78); - Carpinteiros e marceneiros (construção de casas): RR= 2,29 (IC95% 1,17-4,49); - Carpinteiros e marceneiros (cortam, esculpem e moldam pequenas peças): RR=2,90 (IC95% 1,19-7,08); - Chapeadores e operadores de máquinas de revestimento: RR=7,19 (IC9% 1,01-51,40); - Chapeadores: RR=4,10 (IC95%1,92-8,75); - Vendedores: RR=1,79 (IC95% 1,08-2,96) - Governo legislativo e trabalho administrativo: RR= 2,72 (IC95% 1,12-6,64).
Kinlen L,	Caso-	- Contato social		Portadores de

Jiang J, Hemminki K. Suécia, 2002.	controle			leucemia de 0 a 4 anos: - Professores contato social maioritário em áreas rurais: OR= 3,47 (IC95% 1,54-7,85); - Professores, profissionais de transporte e trabalhadores de construções contato social maioritário em áreas rurais: OR= 1,59 (IC95% 1,07-2,38)
Infante-Rivard C, Deadman JE. Canadá, 2003.	Caso-controle	Campos magnéticos de extrema baixa frequência (ELF-MFs).	- $\geq 0,4 \mu T$: 2,5 (IC95% 1,2-5,0).	
McKinney PA, Fear NT, Stockton D; UK Childhood Cancer Study Investigators. Reino Unido, 2003.	Caso-controle	- Motorista; - Fumaça de escapamentos; - Hidrocarbonetos particulados inaláveis; - Hidrocarbonetos (exposição dérmica); - Fabricação da borracha; - Metais; - Área da saúde.	Período periconcepcional (1 ano antes da gestação, durante a gestação e pós-natal): Total de leucemias: - Hidrocarbonetos (exposição dérmica): OR= 2,20 (IC95% 1,23-3,95) - Metais: OR= 3,68 (IC95% 1,59-8,55) - Área da saúde: OR= 0,78 (IC95% 0,61-0,98) LLA: - Hidrocarbonetos (exposição	Total de leucemias: - Motorista: OR= 1,36 (IC95% 1,10-1,68) - Fumaça de escapamentos: OR= 1,33 (IC95% 1,09-1,61) - Hidrocarbonetos particulados inaláveis: OR= 1,48 (IC95% 1,19-1,84); - Fabricação da borracha: OR= 4,12 (IC95% 1,03-16,51) LLA: - Fumaça de escapamentos: OR= 1,26 (IC95%

			dérmica): OR= 2,16 (IC95% 1,16-4,02) - Metais: OR= 3,91 (IC95% 1,64-9,32)	1,02-1,56) - Hidrocarbonetos particulados inaláveis: OR= 1,41 (IC95% 1,11-1,79) - Fabricação da borracha: OR= 4,80 (IC95% 1,20-19,28).
Pearce MS, Cotterill SJ, Parker L. Reino Unido, 2004.	Caso-controle	- Contato Social, em principal policiais, vendedores e professores.		- LLA, crianças idade entre 2 e 5 anos: OR= 1,5 (IC95% 1,1-2,1).
Infante-Rivard C, Siemiatycki J, Lakhani R, Nadon L. Canadá, 2005.	Caso-controle	- Solventes	Desde 2 anos antes da gestação até o nascimento: - Tolueno: OR= 1,88 (IC95% 1,01-3,47); - Solvente mineral após 1970: OR= 1,82 (IC95% 1,05-3,14); - Alcanos (C5-C17): OR= 1,78 (IC95% 1,11-2,86); - Hidrocarbonetos aromáticos mononucleares: OR= 1,64 (IC95% 1,12-2,41) Durante a gestação: - Tolueno: OR= 2,25 (IC95% 1,02-4,95) - Hidrocarbonetos aromáticos mononucleares: OR= 1,68 (IC95% 1,06-2,67)	
Fear NT, Simpson J,	Caso-controle	- Contato Social		Associação nula paterna para

Roman E; United Kingdom Childhood Cancer Study Investigators. Reino Unido, 2005.				ocupações com diferentes níveis de contato social em períodos distintos da gestação.
Monge P, Wesseling C, Guardado J, Lundberg I, Ahlbom A, Cantor KP, Weiderpass E, Partanen T. Costa Rica, 2007.	Caso- controle	- Pesticidas	LLA: Pré-concepcional (1 ano): - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 3,1 (IC95% 1,2-8,1); 1° Trimestre: - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 4,0 (IC95% 1,8-12,3); 2° Trimestre: - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 4,0 (IC95% 1,3-12,5); - Paraquat: OR= 9,5 (IC95% 1,1-85,5) 3° Trimestre: - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 4,5 (IC95% 1,5-13,6); 1° ano de vida: Associação nula para pesticidas estudados.	LLA: Pré-concepcional (1 ano): - Benomyl, para crianças do sexo masculino: OR= 2,8 (IC95% 1,1-6,9); - Malation, para crianças do sexo masculino: OR= 8,5 (IC95% 1,1-74,1). 1° Trimestre: - Picloram: OR=3,3 (IC95% 1,1-9,8); - Picloram, para crianças do sexo feminino: OR= 5,2 (IC95% 1,2-22,5); - Mancozeb, para crianças do sexo masculino: OR= 3,1 (IC95% 1,1-9,0). 2° Trimestre: Associação nula para pesticidas estudados. 3° Trimestre: Associação nula para pesticidas estudados.

			Qualquer período: Associação nula para pesticidas estudados. Total de leucemias: Pré-concepcional (1 ano): - Total de pesticidas, crianças 1-5 anos: OR= 3,0 (1,1-8,3); - Inseticidas: OR=4,6 (IC95% 1,2-17,8); - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 2,8 (IC95% 1,1-7,2); 1° Trimestre: - Todos os pesticidas: OR= 22,0 (IC95% 2,8- 171,5); - Total de pesticidas, crianças 1-5 anos: OR= 27,6 (IC95% 3,4-226,1); - Total de pesticidas, crianças 6-15 anos: OR= 27,6 (IC95% 3,4-226,1) - Inseticidas: OR=6,9 (IC95% 1,4-33,2); - Herbicidas: OR=5,3 (IC95% 1,4-20,0); - Paraquat, clorotalonil,	1° ano de vida: - Fox: OR= 6,1 (IC95% 1,2–31,6); - Benomyl, para crianças do sexo masculino: OR= 3,3 (IC95% 1,2- 8,8); - Benomyl, de acordo com nível de exposição (alto/baixo): OR= 6,6 (IC95% 1,2- 35,4) - Picloram, de acordo com nível de exposição (alto/baixo): OR= 12,4 (1,6-98,3); - Picloram, para crianças do sexo feminino: OR= 2,7 (IC95% 1,1-7,8). Qualquer período: Associação nula para pesticidas estudados. Total de leucemias: Pré-concepcional (1 ano): - Paraquat, de acordo com nível de exposição (alto/baixo): OR= 2,3 (IC95% 1,1– 5,2) - Benomyl, para crianças do sexo masculino: OR= 2,5 (IC95% 1,1- 6,0); - Total de pesticidas, para
--	--	--	---	---

			glifosato e outros: OR= 3,7 (IC95% 1,2-11,1). 2° Trimestre: - Todos os pesticidas: OR= 4,5 (IC95% 1,4-14,7); - Total de pesticidas, para crianças de 1-5 anos: OR= 5,8 (IC95% 1,6-21,1); - Inseticidas: OR=6,9 (IC95% 1,4-33,2); - Herbicidas: OR=5,3 (IC95% 1,4-20,0); - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 3,3 (IC95% 1,1-10,2); 3° Trimestre: - Paraquat, clorotalonil, glifosato e outros: OR= 3,7 (IC95% 1,2-11,2); 1° ano de vida: Associação nula para pesticidas estudados. Qualquer período: - Fungicidas: OR=1,9 (IC95% 1,1-3,0)	crianças de 6-15 anos: OR= 1,8 (IC95% 1,1-2,9); - Total de fungicidas, para crianças de 1-5 anos: OR= 2,0 (IC95% 1,1-3,6) 1° Trimestre: - Picloram, para crianças do sexo feminino: OR= 4,5 (IC95% 1,1-19,2); - Total de herbicidas, para crianças de 6-15 anos: OR= 1,9 (IC95% 1,1-3,3); - Total de organofosforados, para crianças de 6-15 anos: OR= 2,3 (IC95% 1,3-4,2) 2° Trimestre: - Total de herbicidas, para crianças de 6-15 anos: OR= 2,1 (IC95% 1,2-3,6) 3° Trimestre: - Inseticidas: OR=2,2 (IC95% 1,2-4,1) 1° ano de vida: - Benomyl de acordo com nível de exposição (alto/baixo): OR=5,5 (IC95% 1,1-26,4); - Benomyl, para
--	--	--	--	---

				crianças do sexo masculino: OR= 3,0 (IC95% 1,1-7,7); - Picloram, de acordo com nível de exposição (alto/baixo): OR= 12,4 (1,6-98,3); - Total de herbicidas, para crianças de 6-15 anos: OR= 1,8 (IC95% 1,1-3,0). Qualquer período: - Fungicidas: OR=1,9 (IC95% 1,1-3,0).
Pearce MS, Hammal DM, Dorak MT, McNally RJ, Parker L. Inglaterra, 2007.	Caso-controle	- Campos magnéticos de extrema baixa frequência (ELF-MFs).		- ELF: OR=1,31 (IC95% 1,02-1,69) - Crianças, de sexo masculino, < 6 anos: OR= 1,81 (IC95% 1,19-2,75).
Sung TI, Wang JD, Chen PC. Taiwan, 2008.	Coorte	- Indústria de produtos eletrônicos	- Produtos eletrônicos: RR=3,83 (IC95% 1,17-12,55)	
Perez-Saldivar ML, Ortega-Alvarez MC, Fajardo-Gutierrez A, Bernaldez-Rios R, Del Campo-Martinez Mde L, Medina-Sanson A, Palomo-Colli MA,	Caso-controle	- Agentes carcinogênicos		Pré-concepcional: - Agente de seguros: OR= 13,75 (IC 95% 1,20-156,65) - Agentes carcinogênicos: Pré-concepcional: OR= 1,69 (IC95% 0,98-2,92); Durante a gestação: OR= 1,98 (IC95%

Paredes-Aguilera R, Martínez-Avalos A, Borja-Aburto VH, Rodriguez-Rivera Mde J, Vargas-Garcia VM, Zarco-Contreras J, Flores-Lujano J, Mejia-Arangure JM. México, 2008.				1,13-3,45); Durante amamentação: OR= 2,11 (IC95% 1,17-3,78); Após nascimento: OR=2,17 (IC95% 1,28-3,66); Exposição global: OR= 2,06 (IC95% 1,24-3,42)
Johnson KJ, Alexander BH, Doody MM, Sigurdson AJ, Linet MS, Spector LG, Hoffbeck W, Simon SL, Weinstock RM, Ross JA. EUA, 2008.	Caso-controle	- Campos magnéticos de extrema baixa frequência (ELF-MFs).	Associação nula para exposição materna ou paterna a ELF-MFs.	Associação nula para exposição materna ou paterna a ELF-MFs.
McKinney PA, Raji OY, van Tongeren M, Feltbower RG. Reino Unido, 2008.	Caso-controle	- Solventes; - Derivados de petróleo.	Associação nula para exposições ocupacionais maternas após análise de qualidade de informações.	
Wigle DT, Turner MC, Krewski D. Canadá, 2009.	Metanálise	- Pesticidas	Pré-natal: - Pesticidas: OR= 2,09 (IC95% 1,51–2,88) - Exposições agrícolas: OR=2,44 (IC95% 1,53–3,89)	

			- Inseticidas: OR= 2,72 (IC95% 1,47-5,04) - Herbicidas: OR= 3,62 (IC95% 1,28-10,3)	
Hug K, Grize L, Seidler A, Kaatsch P, Schüz J. Alemanha, 2010.	Caso-controle	- Campos magnéticos de extrema baixa frequência (ELF-MFs).	Associação nula para exposição materna ou paterna a ELF-MFs.	Associação nula para exposição materna ou paterna a ELF-MFs.
Castro-Jiménez MÁ, Orozco-Vargas LC. Colômbia, 2011.	Caso-controle	- Hidrocarbonetos	Pré-concepcional: - Óleos minerais: OR= 3,14 (IC95% 1,34-7,35) - Alifáticos: OR= 3,50 (IC95% 1,41-8,67) - Aromáticos: OR= 3,50 (IC95% 1,41-8,67) - Tricloroetileno: OR= 3,50 (IC95% 1,41-8,67) - Benzeno: OR= 3,00 (IC 95% 1,27-7,05) - Epicloridrina: OR= 3,66 (IC95% 1,02-13,14) - Óxido de etileno: OR= 2,85 (IC95% 1,20-6,75) - Combustão do diesel: OR=3,66 (IC95% 1,48-9,04)	Pré-concepcional: - Óleos minerais: OR= 2,15 (IC95% 1,12-4,16) - Tricloroetileno: OR= 2,15 (IC 95% 1,12-4,16)
Reid A, Glass DC, Bailey HD, Milne E, de Klerk NH, Downie P, Fritschi L; Aus-ALL Consortium.	Caso-controle	- Campos magnéticos de extrema baixa frequência (ELF-MFs).	Associação nula para exposição materna ou paterna a ELF-MFs.	Associação nula para exposição materna ou paterna a ELF-MFs.

Austrália, 2011.				
Reid A, Glass DC, Bailey HD, Milne E, Armstrong BK, Alvaro F, Fritschi L. Austrália, 2011.	Caso-controle	- Solventes; - Colas; - Tintas; - Escapamentos.	- Escapamentos: OR= 1,97 IC95% 0,99-3,90	- Escapamentos: OR= 1,37 IC95% 1,01-1,86
Keegan TJ, Bunch KJ, Vincent TJ, King JC, O'Neill KA, Kendall GM, MacCarthy A, Fear NT, Murphy MF. Inglaterra, 2012.	Caso-controle	- Contato Social		- Contato Social: OR= 1,14 (IC95% 1.05-1,23)
Glass DC, Reid A, Bailey HD, Milne E, Fritschi L. Austrália, 2012.	Caso-controle	- Pesticidas	Associação nula para exposições ocupacionais à pesticidas materna no período pré-concepcional ou durante a gestação.	Associação nula para exposições ocupacionais à pesticidas paterna no período pré-concepcional ou durante a gestação.
Zheng R, Zhang Q, Zhang Q, Yang L, Zhang Z, Huang F. China, 2013.	Metanálise	- Pentaclorofenol	Associação positiva entre exposição ocupacional materna à pentaclorofenol e leucemias na infância.	Associação positiva entre exposição ocupacional paterna à pentaclorofenol e leucemias na infância.
Miligi L, Benvenuti A, Mattioli S, Salvan A, Tozzi GA, Ranucci A, Legittimo P,	Caso-controle	- Solventes	Pré-concepcional: - Alifáticos: OR= 4,3 - Hidrocarbonetos Aromáticos: OR=3,8	Durante a gestação: - Diesel: OR= 1,4 - Chumbo: OR= 1,7 - Óleos minerais: OR=1,4

Rondelli R, Bisanti L, Zambon P, Cannizzaro S, Kirchmayer U, Cocco P, Celentano E, Assennato G, Merlo DF, Mosciatti P, Minelli L, Cuttini M, Torregrossa V, Lagorio S, Haupt R, Risica S, Polichetti A; SETIL Working Group, Magnani C. Itália, 2014.				
Kumar A, Vashist M, Rathee R. Índia, 2014.	Caso- controle	- Pesticidas	Associação positiva, $p < 0.05$ para exposição materna à pesticidas durante a gestação.	
Bailey HD, Fritsch L, Infante- Rivard C, Glass DC, Miligi L, Dockerty JD, Lightfoot T, Clavel J, Roman E, Spector LG, Kaatsch P, Metayer C, Magnani C, Milne E, Polychronopoulou S,	Metanálise	- Pesticidas	Durante a gestação: Para LLA: OR= 1,01 (IC95% 0,78- 1,30). Para LMA: OR= 1,94 (IC95% 1,19- 3,18).	Pré-concepcional: Para LLA: OR= 1,20 (IC95% 1,06- 1,38) Para LMA: OR: 0,91 (IC95% 0,66- 1,24)

Simpson J, Rudant J, Sidi V, Rondelli R, Orsi L, Kang AY, Petridou E, Schüz J. CLIC, 2014.				
Bailey HD, Fritschi L, Metayer C, Infante-Rivard C, Magnani C, Petridou E, Roman E, Spector LG, Kaatsch P, Clavel J, Milne E, Dockerty JD, Glass DC, Lightfoot T, Miligi L, Rudant J, Baka M, Rondelli R, Amigou A, Simpson J, Kang AY, Moschovi M, Schüz J. CLIC, 2014.	Metanálise	- Tintas	Associação nula para exposições ocupacionais à tintas materna no período pré-concepcional ou durante a gestação.	Associação nula para exposições ocupacionais à tintas paterna no período pré-concepcional ou durante a gestação.
Zhou Y, Zhang S, Li Z, Zhu J, Bi Y, Bai Y, Wang H. China, 2014.	Metanálise	- Tintas	Durante a gestação: - Tintas: Associação positiva para LLA.	

Todavia, a exposição ocupacional ou não ocupacional a substâncias químicas como medicamentos, pesticidas, tinturas de cabelo, álcool e fumo ainda apresentam resultados controversos, sendo necessários outros estudos adicionais que explorem sua possível interação.

3- JUSTIFICATIVA

A leucemia em menores de 2 anos apresenta variações em suas taxas de incidência. As diferenças são encontradas tanto entre continentes, como é o caso da Europa, África, Ásia e Américas, quanto dentro de um mesmo país, no caso do Brasil, em que as variações ocorrem regionalmente. A ocorrência dessas variações e os fatores nela envolvidos sugerem que os casos de leucemia decorram de uma modificação genômica própria e específica, aliada aos fatores ambientais e à ocorrência de infecções.

O padrão imuno-molecular, as informações epidemiológicas e os dados etiopatológicos consistentes sugerem que as leucemias são causadas por mecanismos multifatoriais. E, entender a etiologia desse conjunto de doenças se torna relevante para prevenção de novos casos.

Devido à constituição genética, cada indivíduo possui uma capacidade distinta em metabolizar carcinógenos e, conseqüentemente, no risco individual de vir a desenvolver o câncer. Por isso, um diagnóstico correto, rápido e preciso, aliado à classificação biológica das leucemias agudas é fundamental para o prognóstico e a orientação terapêutica.

Frente aos adultos, os lactentes 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 às exposições que podem acarretar no desenvolvimento da leucemia na infância.

As considerações acima reforçam que os estudos sobre leucemia infantil são os mais indicados para investigar exposições ambientais, visto que essas neoplasias possuem um período de latência curto da doença. Desta maneira, seria possível avaliar exposições paternas e, principalmente, maternas, ocupacionais ou não, durante o período gestacional, assim como o consumo de álcool e fumo, que podem estar associadas a alterações genéticas intrauterinas.

4- OBJETIVOS

4.1- Objetivo Geral

Avaliar o consumo de fumo e de álcool maternos, a exposição ocupacional materna e paterna e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos na população brasileira.

4.2- Objetivos Específicos

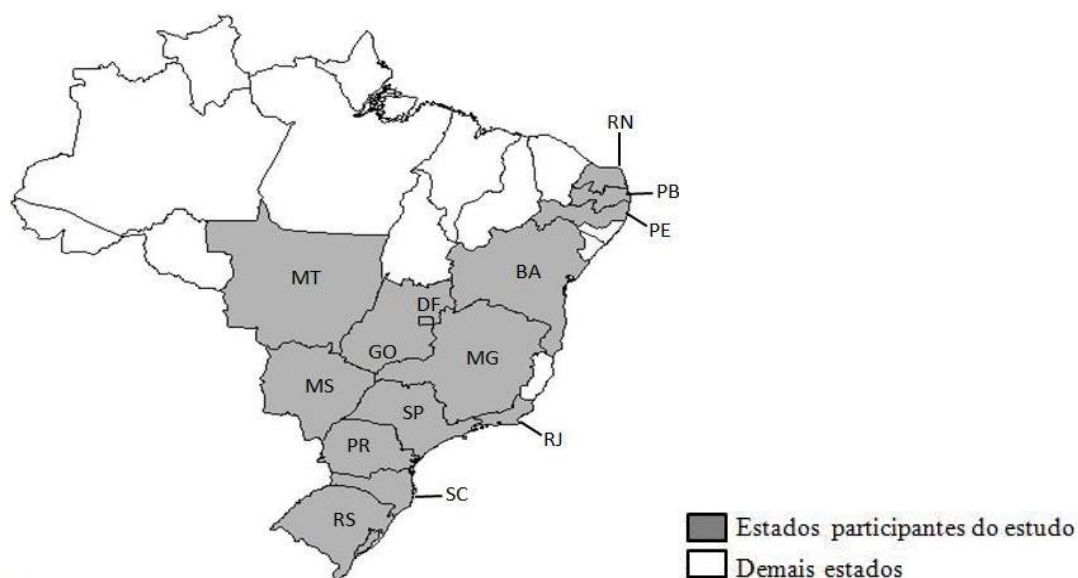
- ✓ Determinar a magnitude de associação entre a exposição materna ao fumo durante o período pré-concepcional, gestacional e lactação e o desenvolvimento de leucemias agudas em menores de 2 anos;
- ✓ Determinar a magnitude de associação entre a exposição materna a bebidas alcóolicas durante o período pré-concepcional e gestacional e o desenvolvimento de leucemias agudas em menores de 2 anos;
- ✓ Determinar a magnitude de associação entre a exposição ocupacional materna durante o período pré-concepcional, gestacional e os dois primeiros anos de vida e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos;
- ✓ Determinar a magnitude de associação entre a exposição ocupacional paterna durante o período pré-concepcional, gestacional materno e os dois primeiros anos de vida da criança e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos.

5- MÉTODOS

5.1- 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 (n= 675) foram recrutados de 15 hospitais localizados nos estados de Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Goiás, Brasília, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba e Distrito Federal, constituindo a população a ser analisada neste estudo (Fig. 7).

Figura 7 – Mapa com distribuição dos centros diagnósticos participantes no Brasil.



5.2- Desenho de Estudo

Trata-se de um estudo caso-controle de base hospitalar, no qual os casos de leucemia em menores de 2 anos foram pareados por frequência, na proporção de 1 caso para cada 2 controles e segundo local de residência. Os dados analisados neste trabalho foram obtidos por meio de entrevistas com mães de pacientes recrutados na rede nacional especializada em tumores onco-pediátricos (casos). Bem como, em pacientes de mesma faixa etária hospitalizados com patologias não neoplásicas (controles).

5.3- Critérios de Inclusão

A eleição de casos seguiu aos critérios de inclusão que compreendem crianças na faixa etária entre 0 e 2 anos incompletos, e com diagnósticos conclusivos para leucemia linfóide ou mieloide aguda, confirmados pelos métodos morfológico, imunofenotípico e citogenético-molecular.

Os controles foram selecionados nos centros de origem dos casos, pertencentes ao mesmo estrato de idade e em tratamento para outras doenças não malignas. As crianças selecionadas como controles apresentaram hospitalização por diversas patologias com a finalidade de reduzir-se a ocorrência de possível viés de seleção, visto que as patologias poderiam estar associadas às exposições de interesse deste estudo. Destacam-se as doenças infecciosas e parasitárias; doenças hematológicas (anemias); doenças respiratórias (asma, bronquite e pneumonia); doenças do aparelho

digestivo (gastroenterites); doenças cardiovasculares (cardiopatias), entre outras. Além de apresentar quadro de gravidade, com o intuito de reduzir a possível introdução de viés de memória relativa às informações coletadas.

5.4- 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.

5.5- 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, no período entre 1999 e 2007, com as mães de casos e controles, foram obtidas informações sobre o perfil socioeconômico da família, sobre a sua história ocupacional e a do pai e informações sobre os respectivos produtos utilizados desde a gestação até o nascimento. Assim como, os hábitos de vida e de saúde de ambos os progenitores e exposições durante a gestação, dentre as quais, a exposição ao álcool e ao fumo.

5.6- Variáveis de estudo

A variável desfecho considerada neste trabalho é o desenvolvimento de leucemia aguda em menores de 2 anos, incluindo ambos os tipos celulares afetados (linfóide e mieloide).

Os dados relacionados ao tabagismo contemplaram as variáveis: consumo de fumo durante a gestação; consumo de fumo (cigarros/dia) 3 meses antes da gestação, 1º, 2º e 3º trimestre e lactação; e residência com fumantes (ao menos um morador da residência era tabagista durante a gestação). O consumo de fumo (cigarros/dia) foi calculado utilizando a média do consumo nos períodos gestacionais, estratificado em 1-5 cigarros/dia; 5-19 cigarros/dia; e 20 ou mais cigarros/dia.

O consumo etílico foi mensurado considerando a ingestão de bebidas alcoólicas durante a gestação; o tipo de bebida; a dose; e a frequência durante os períodos pré-concepcional, gestacional e durante a lactação. Avaliou-se a modificação de efeito por meio da análise dos padrões de exposição ao fumo (não fumantes, fumantes moderadas e fumantes intensas) e ao álcool (abstêmio, uso ocasional e uso frequente).

Como variáveis de exposição ocupacional materna e paterna, foram utilizados os dados fornecidos pela mãe das atividades laborais, cargo/função, carga horária semanal e período na função ao longo da vida até o atual, obtidos no momento da entrevista. Foram obtidas informações da história ocupacional materna e paterna sobre exposições a substâncias potencialmente carcinogênicas ocorridas ao menos uma vez nos 3 meses antecedendo o início da gestação, durante a mesma, e ao longo de 3

meses após o parto. Estas incluíram a menção sobre a exposição a poeiras metálicas, areia, cimento, concreto, madeira, carvão, fuligem, algodão, lã e/ou fibra de vidro, lubrificantes, fluido de corte, mineral, combustíveis, solventes e desengraxantes, aguarraz, tricloroetileno, percloroetileno, creosoto, asfalto ou betume, ácido clorídrico ou sulfúrico, colas e / ou tintas.

As ocupações foram classificadas de acordo com a Classificação Internacional de Ocupações (ISCO-88) ao nível da unidade e, posteriormente, categorizadas em grupos principais. São eles: 0110 (militares); 1 (legisladores, funcionários de cargos de alto nível e gerentes); 2 (profissionais qualificados); 3 (técnicos); 4 (balconistas); 5 (serviços e vendas); 6 (agricultura e pescadores); 7(trabalhadores manuais); 8 (operadores de máquinas e montadores) e 9 (serviços gerais).

As covariáveis de ajuste selecionadas estão descritas na literatura como potencialmente confundidoras, sendo as seguintes, sexo da criança, peso ao nascer (< 3999 g e ≥ 4000 g), cor de pele do lactente (não brancos e brancos), uso de contraceptivos materno durante a gestação (uso ou não uso), idade materna no momento do parto (< 35 anos e ≥ 35 anos) e escolaridade materna (≤ 8 anos e > 8 anos de instrução); (Ferreira *et al.*, 2012; Pombo-de-Oliveira e Koifman, 2006).

5.7- Análise Estatística

A associação entre as exposições ocupacionais paternas e maternas, assim como a exposição materna ao álcool e fumo e as leucemias em lactentes foi determinada por meio de modelagem com regressão logística não condicional,

possibilitando a obtenção das razões de chances (*odds ratio*, OR) com os respectivos intervalos de confiança de 95%. As análises serão realizadas por meio do *Statistical Package for Social Science* (SPSS), versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, 2008).

5.8- Questões Éticas

O projeto “Estudo Multi-institucional das Leucemias Infantis: Contribuição dos Marcadores Imuno-moleculares na Distinção de Diferentes Fatores Etiopatogênicos”, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INCA sob o registro nº 005/06. O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP/FIOCRUZ para apreciação, sendo aprovado sob o registro No. 864794/14.

5.9- Apoio Financeiro

Este estudo tem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e da Fundação Swiss Bridge.

6.0- Resultados

Visando atender aos objetivos de estudo, a presente tese foi elaborada no formato de artigos científicos intitulados:

- Pregnancy, maternal tobacco smoking and early age leukemia in Brazil, disponível na revista científica Frontiers in oncology: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2012.00151/abstract>
- Maternal alcohol consumption during pregnancy and early age leukemia risk in Brazil, disponível na revista científica Biomed Research International: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/732495/>
- Case-control study of early age leukemia and parental occupational exposures during pregnancy in Brazil.

6.1- 1º Artigo da tese:

Pregnancy, maternal tobacco smoking and early age leukemia in Brazil

Jeniffer Dantas Ferreira¹, Arnaldo Cézar Couto¹, Maria S. Pombo-de-Oliveira², Sergio Koifman¹, *Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia*³.

¹ Environment and Public Health Post-graduation Program, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rua Leopoldo Bulhões 1480, Rio de Janeiro, Brazil, 21041-210

² Pediatric Hematology-Oncology Program, Research Center, Instituto Nacional de Câncer/Rio de Janeiro, Rua Andre Cavalcanti 37, Rio de Janeiro,RJ, Brazil, 20231-050

³ Members of the Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia, listed in the appendix as co-authors

Correspondence to: Sergio Koifman, MD, PhD, Environment and Public Health Post-graduation Program, National School of Public Health (ENSP), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rua Leopoldo Bulhões 1480, Rio de Janeiro, RJ, zip code: 21041-210, Brazil. E-mail: koifman@ensp.fiocruz.br

Running title: Pregnancy, smoking and childhood leukemia.

Abstract

Background: Cigarette smoking has been associated with acute myeloid leukemia but hypothesis on the association between maternal smoking during pregnancy and childhood leukemia remains unclear. **Objectives:** To investigate the association between maternal exposure to tobacco smoking during pregnancy and early age (< 2 years) leukemia (EAL). **Methods:** A hospital-based multicenter case-control study aiming to explore EAL risk factors was carried out in Brazil during 1999-2007. Data were collected by direct interview with the biological mothers using a standardized questionnaire. The present study included 675 children (193 acute lymphoid leukemia - ALL, 59 AML and 423 controls), being the latter age frequency matched and paired by area of residence with the cases. Unconditional logistic regression was performed, and odds ratios (OR) on the association between tobacco smoking (3 months before pregnancy, during pregnancy, and 3 months after delivery) and EAL were ascertained after adjustment for selected variables (maternal age at birth and education, birth weight, infant skin color, and oral contraceptives use during pregnancy). **Results:** Smoking was reported by 17.5% of case mothers and 20.6% of controls'. Among women who reported to have smoked 20 or more cigarettes during the index pregnancy, an adjusted OR = 5.28 (95% C.I. 1.40-19.95) for ALL was observed. Heavy smoking during breastfeeding yielded an adjusted risk estimate for ALL, OR = 7.78 (95% C.I. 1.33-45.5). No dose-response effect was observed according to smoking exposure during pregnancy and EAL. An association between secondhand smoking during pregnancy or breastfeeding was not observed. **Conclusion:** An association

between maternal smoking and EAL in the offspring was restricted to women who have reported an intense exposure to tobacco smoke during pregnancy and breastfeeding.

Keywords: Smoking, Pregnancy, Childhood Cancer, Infant Leukemia, Lactation.

Introduction

The current smoking prevalence worldwide reaches around one billion persons (WHO, 2009). Epidemiologic research mainly conducted since 1950 has identified a causal association between tobacco smoking and lung cancer, as well as with twenty other tumor types (Secretan *et al.*, 2009), chronic bronchitis, and ischemic heart diseases (Mackay and Eriksen, 2002).

In Brazil, data from a national population-based survey performed in 2008 indicated that 17.2% of individuals > 14 years smoke, which represents about 25 million people (IBGE, 2008). Some detailed etiological mechanisms on the association between smoking and cancer remain unknown. Nevertheless, cigarette smoke spread over than 4,000 chemicals and toxic metals, including aluminum, ammonia, arsenic, benzene, DDT, dieldrin, carbon monoxide, carbon dioxide, chloroform, formaldehyde, hydrogen, lead, tar and vinyl chloride. More than 40 of these chemicals are known carcinogens (Hecht, 1999; Chang et al. 2006; Thielen et al., 2008), 20 of them being probably involved in the induction of lung cancer as observed in animal studies (Hecht, 1999), and 11 considered human carcinogens (IARC, 2004). Moreover, tobacco smoke includes several chemicals which have been reported as leukemogenic in the literature,

such as benzene (Korte *et al.*, 2000; Hoffmann *et al.*, 2001), pesticides (Rahman *et al.*, 2012), arsenic (Yang, 2011), and metals (Yang, 2011).

According to leukemogenesis, the cytochrome-P450 enzymes family and NQO1 gene polymorphisms are involved in activation of benzene and other xenobiotic metabolites, both participating in benzoquinone detoxification and reactivating benzene intermediates (Zhang *et al.*, 2010). Giving some support for an association between smoking and leukemia, a study carried out in Japan showed an increased risk for leukemia when occurring a joint occupational exposure to benzene in the presence of the NQO1 enzyme homozygous polymorphism [OR = 7.6 (95% CI 1.8-31.2)] (Rothman *et al.*, 1997).

Nicotine readily crosses the placenta and the fetal concentrations are 15% higher than maternal levels (Lambers and Clark, 1996). Nevertheless, maternal exposure to smoking during pregnancy was not associated with an increased risk of leukemia in a north-American study (Chang *et al.*, 2006). However, paternal smoking during preconception showed statistically significant high risk estimates for AML, OR = 3.84 (95% CI 1.04-14.17). When combined with maternal exposure during lactation, the study also found an increased ALL risk.

This study aimed to determine the magnitude of association between maternal exposure to smoking during preconception, pregnancy and lactation, and the development of leukemia in children under 2 year in Brazil.

Materials and Methods

Study Population

This investigation is part of a multicenter study named “Multi-institutional Study of Infant Leukemia: Contribution of Immunomolecular Markers in Distinguishing Different Etiopathogenic Factors”, which focuses on the investigation of the pathogenic mechanisms of early age leukemia (EAL) in Brazil (Pombo-de-Oliveira et al., 2006). Participants (n=675) were children < 2 year, recruited from 15 different hospitals providing oncologic care, or general hospitals in all geographic areas in the country but the Amazon, including cities in the South, the Southeast, the Northeast, and the Midwest regions.

Study Design

This is a hospital-based multicenter case-control study in which controls were age frequency matched and paired by area of residence with enrolled cases. Data were obtained by interviews carried out with the respective patient mothers recruited in the Brazilian national universal healthcare system hospitals, which provide free care for pediatric patients either diagnosed with cancer or other illnesses.

Case and controls ascertainment

Cases (n=252) were defined as children $\leq$ 24 month old with a conclusive diagnosis of acute lymphoid leukemia (ALL) or acute myeloid leukemia (AML), confirmed by morphologic, immunophenotypical and cytogenetic-molecular standard

methods. About 90% of ALL had confirmatory immunophenotyping, and both ALL and AML had been tested for specific lineage molecular diagnosis.

Controls (n=423) were selected in the centers wherein cases were recruited, or general hospitals settled in the same cities, all belonging to the same age group and presenting non-malignant diseases. In order to reduce recall bias, they included hospitalized children with quite life-threatening conditions presenting the following distribution: infectious and parasitic diseases (n=124, 29.4%); non-malignant hematological diseases (n=83, 19.6%); asthma and bronchitis (n=43, 10.2%); hemangiomas (n=40, 9.4%); severe diarrhea (n=39, 9.2%); cardiovascular diseases (n=25, 5.8%); and others (n=69, 16.4%).

Exclusion Criteria

Cases and controls with congenital syndromes, myelodisplasia, adoptive parents or unknown biological mothers, were not included in this study. Controls with malignant or other benign tumor diagnosis were excluded.

Data Collection

The study was specifically designed to collect information on environmental exposures potentially associated with leukemogenesis. Data collection was gathered through face-to-face interview with case and control mothers, after signing a written informed consent. A standardized questionnaire containing the family's socioeconomic background, parents' occupational history, health antecedents, medicines use, as well

as lifestyle patterns, including smoking, alcohol consumption, and other environmental exposures during pregnancy, was used.

Antecedents of reported maternal smoking were obtained, including smoking status at interview (never, past and current smoking) and smoking during pregnancy. The latter included the usual amount of daily smoked cigarettes during preconception, pregnancy and breastfeeding, and usual smoking frequency at these time windows: no primary hand smokers; moderate smokers (less than 20 smoked cigarettes per day); and heavy smokers (20 or more smoked cigarettes per day). Information on the lifelong length of tobacco exposure (in years), secondhand smoking, and smokers amount at home during pregnancy were also obtained.

Ethical Aspects

This study used primary data obtained from the project “Multi-institutional Study of Infant Leukemia: Contribution of Immunomolecular Markers in Distinguishing Different Etiopathogenic Factors”. This investigation was approved by the Research Ethics Committee of the Brazilian National Cancer Institute, No. 005/06.

Study Power

The initial sampling ascertainment forecast a sample size of 576 individuals, according to 2:1 controls per case ratio, totaling 192 cases and 384 controls for the study population. With a power of 80%, a type I error $\alpha = 5\%$, the size of the study enabled to detect minimum odds ratios of 1.8 for an exposure prevalence among controls of about 30%.

Statistical Analysis

Unconditional logistic regression was performed to estimate the magnitude of association between maternal smoking and EAL, being the respective odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals ascertained after adjustment for selected variables (maternal age and education, oral contraceptives use during pregnancy, birth weight and skin color) previously identified as confounders in the studied dataset (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2006). Considering the inclusion of some controls with asthma and cardiovascular diseases, a sensibility analysis was performed to evaluate the overall impact of these participants in the ascertained association measures.

Results

The main socio-demographic participant characteristics reveal statistically significant differences between cases and controls regarding maternal age, skin color, education and income (Table 1). Thus, approximately 67% of cases were white (36% of controls), 60% of case mothers were 25 years or older (43% among controls), and 58% of the former reported school attendance of 8 years or more (49% among controls).

Maternal tobacco smoking during pregnancy was reported by 17.5% of case mothers and 20.6% of controls'. Among children 0-11 months, maternal smoking during the index pregnancy was reported by 18.2% of ALL mothers, 17.9% of AML, and 23.1% of control's. According to children 11-23 months, these proportions were, respectively, 20.0%, 6.5% and 16.7%. No association between maternal smoking and ALL or AML was observed according to the child age strata, 0-11 months and 12-23 months (Table 2).

Considering the amount of daily smoked cigarettes, a statistically significant association was observed between maternal daily consumption of 20 or more cigarettes and ALL, adjusted (adj.) OR= 5.28, 95% CI 1.40-19.95 (table 3). Nevertheless, no dose-response effect on the amount of smoked tobacco and EAL was verified. Heavy smoking (20 or more cigarettes daily) during the studied time windows of interest was reported by 9 (4.71%) of ALL mothers and 4 (0.9%) of controls (Table 3).

Enrolled children with a diagnosis of asthma (n=18) and cardiovascular diseases (n=28) accounted for 10.8% of controls. A sensitivity analysis was performed excluding them, and small changes on the risk estimates were observed. For instance, the magnitude of association between maternal heavy smoking during the third trimester (Table 4) changed from adj. OR = 7.78, 95 C.I. 1.33-45.5 (all controls included) to adj. OR = 6.98, 95% C.I. 1.21-40.4 (asthma and cardiovascular diseases excluded). A similar pattern was observed for other time windows of exposure (data not shown).

Not statistically significant increased EAL risk estimates associated with a cumulative exposure to tobacco smoking were observed for ALL in all quartiles of time length of tobacco exposure. Comparatively to the first quartile (0-5 years) used as reference, the following risk estimates were verified: adj. OR= 1.43, 95% C. I. 0.29-7.06 in the second smoking quartile (6-9 yr.); adj. OR=1.24, 95% C. I. 0.21-7.43 in the third quartile (10-14 year); adj. OR= 1.74, 95% C. I. 0.29-10.3 in the fourth quartile (14 year or more, p-trend=0.32 (Table 3). No association was also observed according to maternal secondhand smoking.

Discussion

Although smoking has historically been a predominantly male-related behavior until the beginning of the twentieth century (Einarson and Riordan, 2009), women's liberation movement during the 1960s and 1970s accelerated a lifestyle change, with smoking increase among women in industrialized countries. Hence, increasing rates of several smoking health related hazards among women started to be observed in Brazil and other countries (Lombardi *et al.*, 2010). Such epidemiological change has stimulated the organization of public policies towards smoking control programs addressed to prevent such addiction among women (Amos *et al.*, 2012).

Eleven cigarette compounds were detected as human carcinogens and others may be carcinogenic, but have not been yet fully evaluated (IARC, 2004). Tobacco smoke also contains tumor promoters (phenolic substances), co-carcinogens (catechol and related compounds), toxic agents (acrolein and other aldehydes) and free radical species (nitric oxide and others) (IARC, 2004).

Even though, the role of parental prenatal smoking in childhood leukemia remains unknown. Nevertheless, such biological plausibility is supported by the presence of carcinogenic chemicals in tobacco smoke (IARC, 2002; Thielen *et al.*, 2008), and their ability to cross the placenta (de la Chica *et al.*, 2005), to cause DNA damage (Potts *et al.*, 1999), oxidative damage (Fraga *et al.*, 1996), chromosomal abnormalities (Pluth *et al.*, 2000) and aneuploidy in human sperm (Shi *et al.*, 2001).

Maternal tobacco smoking during pregnancy was reported in this study by 17,5% of case mothers and 20,6% of controls'. Data from a population-based national survey carried out in 2008 indicated that smoking prevalence in women 15 year or older was

13.1% in Brazil (IBGE, 2008). According to other national population-based survey with phone interviews, such figures are higher in the South and Southeast of Brazil, wherein they range around 22% among women, being lower in the Northeast, around 6% (Brazil, 2009).

The null association between maternal smoking and EAL risk regardless the period of exposure during pregnancy, as observed in this study, is consistent with the literature. The absence of an association between maternal smoking exposure and EAL according to the child age strata in this investigation, does not support an association between the occurrence of MLL gene rearrangements as a consequence of such exposure, considering the high prevalence of such rearrangements observed in infant leukemia (Marschalek, 2011).

On the other hand, an association between maternal smoking during pregnancy and EAL cannot be completely ruled out, since a statistically significant association was observed for heavy smokers and ALL, adj. OR= 5.28, 95% CI 1.40-19.95. Hence, this study results suggest that such association may occur, if the amount of tobacco daily exposure remains high during pregnancy or immediately later. Nevertheless, it is important to remark that these results were observed with few heavy smoker mothers (9 ALL and 4 control mothers). Additionally, the variable smoking consumption was highly correlated during the time windows of exposure (Pearson correlation coefficients ranging from $r=0.66$ between preconception and breastfeeding, and $r = 0.85$ between the third trimester and breastfeeding). In regard to secondhand smoking during pregnancy, no association with EAL was observed.

A research published by IARC/WHO concluded that passive smoke is carcinogenic (IARC, 2004), and smoke inhaled by passive smokers is responsible for tobacco-related diseases, especially lung cancer (Hackshaw *et al.*, 1997). Passive smoking may begin during the intrauterine life, due to pregnant smokers, workplaces and living with smokers, introducing toxic substances through the umbilical cord to the fetus. Besides differences according to carcinogenesis in early life, infants have distinct capacities from adults to metabolize and clear chemicals, which can result in larger or smaller internal doses of active agents, either increasing or decreasing risk (Ginsberg *et al.*, 2002).

A case-control study conducted in Australia (Milne *et al.*, 2012) examined the association between parental smoking and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. Maternal smoking was not associated with risk of childhood ALL, but a performed meta-analyses suggested that heavier paternal smoking around the time of conception is a risk factor for childhood ALL (OR= 1.44, 95% CI 1.24-1.68).

A Canadian study observed an association between AML and 10-19 cig./day consumption during pregnancy, OR= 3.89, 95% C.I. 1.31-11.58. The risk estimate for the same intake during the first trimester was OR= 4.03, 95% C.I. 1.33-12.21 (MacArthur *et al.*, 2008). Conversely, two French studies did not find an association between maternal smoking and childhood leukemia. The first one did not either observed an association before, or during pregnancy, or during childhood (Menegaux *et al.*, 2007). The other study did not detect an association regardless the maternal period of smoking during pregnancy (Menegaux *et al.*, 2005). In a national registry-based case-control carried out in France (Rudant *et al.*, 2008), an association between maternal smoking

and childhood leukemia was also not observed. In this sense, only few studies have found maternal smoking to be significantly associated with the risk of ALL (Soharan *et al.*, 2001; MacArthur *et al.*, 2008).

The analyzed data in the current investigation were strictly dependent on a maternal report, which may have introduced incorrect exposure estimates, being over or underreported. Nevertheless, we believe that whether this lack of accuracy has occurred, it probably was non differential, considering the use of a standardized questionnaire and interview procedures to get information from case and control mothers, which decreases the potential differential misclassification. Thus, we consider that the observed results are not likely to be explained by underreporting smoking controls, since the proportion of mothers who reported to have smoked during the study was higher than the average percentage of Brazilian population in 2003 (18.4%) and 2008 (13.1%), (Wunsch Filho *et al.*, 2010). However, mothers of reported cases may have been not exposed to their own cigarettes, thus reducing the chance to produce an observable association. On the other hand, Menegaux and colleagues (2005) suggested that the general feeling of guilty associated with smoking may be stronger in mothers of children with leukemia than among control's, arising unequal accuracy of information provided by the former.

Most of the literature reveals a relationship between the risk of childhood leukemia and paternal smoke around the time of conception, probably due to its influence in spermatogenesis (Milne *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2009; Rudant *et al.*, 2008; Chang *et al.*, 2006; Pang *et al.*, 2003; Shu *et al.*, 1996). In this investigation, paternal smoking data was not obtained. Therefore, evaluation whether the offspring of heavy

smoker mothers - showing higher EAL risk estimates - also had smoker fathers, was unfeasible to be accomplished.

Maternal smoking during pregnancy has been associated to several health hazards, including spontaneous abortion, infertility and sudden infant death syndrome, among several others (Einarson and Riordan, 2009). A higher incidence of spontaneous abortion among case mothers, comparatively to controls', could yield to a null association between smoking and leukemia. If true, however, such fact would mainly target heavy smoker pregnant, and a null association would mainly occur in their offspring, which was not observed. Additionally, it is possible that heavy smoker mothers were less likely to be included in the current study as a consequence of the association between smoking with abortion and infertility.

In the current investigation, the choice of hospitalized controls with severe diseases may have probably mitigated the occurrence of such kind of bias. Controls were selected from the same regions wherein cases came from, as a procedure to assure that the study base principle could be accomplished, i.e., that all enrolled participants could share the background pattern of exposures, thus allowing to obtain unbiased risk estimates with the performed comparisons (Wacholder *et al.*, 1992). Finally, according to AML, the relatively small amount of enrolled cases in this study did not allow the ascertainment of some risk estimates.

This investigation presented some weaknesses. At first, sample size of AML cases limited data exploratory analysis. Secondly, considering the high correlation among the reported smoking prevalence in the different time windows of exposure, the obtained risk estimates in each of them are probably imprecise, and they need to be

interpreted cautiously. Thirdly, data on paternal smoking before and during pregnancy was not collected during the interviews.

Nevertheless, the study presents some strengths. At first, it was feasible to collect maternal data exposure to smoking in a very rare cancer, such as leukemia in children under 2 year. At such age strata, with a short postnatal life span of exposures, the importance of *in utero* environmental exposures is of paramount importance, and the investigation was able to either obtain a detailed report about timing and amount of tobacco (smoked cigarettes) exposure during pregnancy, or other important risk factors, such as birth weight and oral contraceptives use during the same period. Finally, to our knowledge, this is the first Latin American study exploring the association between maternal smoking during pregnancy and leukemia among children under 2 year.

Consistent with most previous studies (Menegaux *et al.*, 2005; Menegaux *et al.*, 2007), this study did not report an association between maternal smoking and EAL. This result is in agreement with a possible lower maternal contribution to the risk of embryonic genetic mutations, comparatively to paternal one. Such observation can result to the fact that the ova are formed and stored in the female embryo, being better protected against genotoxic stress, while the male germ cells, keeps the process continuously (Guerquin *et al.*, 2009). However, maternal daily consumption of 20 or more cigarettes during pregnancy showed a five-fold higher statistically significant association with the risk of ALL. Such risk estimates are indeed higher if considered such exposure during the second trimester of pregnancy, the third trimester, or breastfeeding.

To conclude, this investigation results observed the occurrence of an association between an intensive exposure to tobacco smoking during pregnancy and AAL, being higher if such exposure occurred after the first trimester of pregnancy, including breastfeeding.

Table 1 – Distribution of selected maternal and child socio-demographic variables, leukemia cases and controls, children < 2 year, Brazil, 1999-2007.

		Cases (n= 252), N (%)	Controls (n=423), N (%)	p-value
Sex				
	Male	130 (51,6)	226 (53,4)	0,643
	Female	122 (48,4)	197 (46,6)	
Birth Weight				
	<4000g	234 (92,8)	393 (93,0)	0,470
	> 4000g	16 (6,2)	21 (5,0)	
Skin color				
	White	170 (67.5)	153 (36.2)	< 0.01
	Non white	77 (30.5)	256 (60.5)	
Place of birth				
	Northeast	52 (20.6)	101 (24.1)	0.552
	Midwest	18 (7.1)	31 (7.3)	
	Southeast	155 (61.5)	237 (56.0)	
	South	27 (10.7)	53 (12.5)	
Maternal age at birth^a				
	<18 years	8 (3.2)	60 (14.1)	< 0.01
	18-24 years	91 (36.1)	182 (42.9)	
	25-34 years	117 (46.4)	145 (34.2)	
	>35 years	36 (14.3)	36 (8.8)	
Maternal Education				
	<8 years	81 (32.1)	206 (48.6)	< 0.01
	>8 years	146 (57.9)	209 (49.4)	

^a maternal age at delivery.

Table 2- Maternal smoking during pregnancy according to offspring age strata, leukemia cases, and control mothers, children <2 year, Brazil, 1999-2007.

Tobacco Smoking at pregnancy	Controls (n=423), n (%)	ALL (n=193), n (%)	AML (n=53), n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	OR Ajus ^a (95% CI)	OR (95% CI)	OR Ajus ^a (95% CI)
Maternal smoking							
0-11 months							
No	196 (76.9)	72 (81.8)	23 (82.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	59 (23.1)	16 (18.2)	5 (17.9)	0.74 (0.40-1.37)	0.65 (0.31-1.38)	0.72 (0.26-1.98)	0.41 (0.11-1.59)
12-23 months							
No	140 (83.3)	84 (80.0)	29 (93.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	28 (16.7)	21 (20.0)	2 (6.5)	1.25 (0.67-2.34)	1.38 (0.65-2.93)	0.35 (0.08-1.53)	0.46 (0.10-2.24)
Preconceptional ^b							
0-11 months							
No	176 (69.0)	59 (67.0)	20 (71.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	79 (31.0)	29 (33.0)	8 (28.6)	0.89 (0.38-2.11)	1.23 (0.68-2.22)	1.10 (0.65-1.84)	0.82 (0.30-2.25)
12-23 months							
No	128 (76.2)	79 (75.2)	27 (87.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	40 (23.8)	26 (24.8)	4 (12.9)	1.05 (0.60-1.86)	0.98 (0.50-1.92)	0.47 (0.16-1.44)	0.42 (0.13-1.39)
1 st Trimester							
0-11 months							
No	209 (82.0)	71 (80.7)	24 (85.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	46 (18.0)	17 (19.3)	4 (14.3)	1.09 (0.59-2.02)	1.03 (0.49-2.18)	0.76 (0.25-2.29)	0.62 (0.16-2.34)
12-23 months							
No	145 (86.3)	84 (80.0)	29 (93.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	23 (13.7)	21 (20.0)	2 (6.5)	1.58 (0.82-3.02)	1.61 (0.74-3.51)	0.44 (0.10-1.95)	0.41 (0.08-2.09)
2 nd Trimester							
0-11 months							

No	210 (82.4)	76 (86.4)	25 (89.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (17.6)	12 (13.6)	3 (10.7)	0.74 (0.37-1.47)	0.93 (0.43-2.02)	0.56 (0.16-1.94)	0.38 (0.08-1.83)
12-23 months							
No	146 (86.9)	89 (84.8)	29 (93.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	22 (13.1)	16 (15.2)	2 (6.5)	1.19 (0.60-2.39)	1.37 (0.61-3.07)	0.46 (0.10-2.05)	0.44 (0.09-2.29)
3 rd Trimester							
0-11 months							
No	211 (82.7)	76 (86.4)	25 (89.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	44 (17.3)	12 (13.6)	3 (10.7)	0.76 (0.38-1.51)	0.97 (0.45-2.11)	0.58 (0.17-1.99)	0.40 (0.08-1.91)
12-23 months							
No	146 (86.9)	89 (84.8)	29 (93.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	22 (13.1)	16 (15.2)	2 (6.5)	1.19 (0.60-2.39)	1.50 (0.66-3.41)	0.46 (0.10-2.05)	0.49 (0.09-2.57)
Breastfeeding ^c							
0-11 months							
No	209 (82.0)	77 (87.5)	26 (92.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	46 (18.0)	11 (12.5)	2 (7.1)	0.65 (0.32-1.32)	0.90 (0.42-1.96)	0.35 (0.08-1.53)	0.39 (0.08-1.89)
12-23 months							
No	148 (88.1)	88 (83.8)	29 (93.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	20 (11.9)	17 (16.2)	2 (6.5)	1.43 (0.71-2.87)	1.86 (0.83-4.20)	0.51 (0.11-2.03)	0.69 (0.14-3.53)

a- Adjusted OR by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at birth, maternal education, birth weight and infant skin color

b- 3 months before pregnancy.

c- 3 months after birth.

Table 3 – Secondhand maternal smoking, consumption amount and duration of tobacco exposure, leukemia cases and control mothers, children < 2 year, Brazil, 1999-2007.

Secondhand Smoke	Controls (n=423), n (%)	ALL (n=193), n (%)	AML (n=59), n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	OR Ajus ^a (95% CI)	OR (95% CI)	OR Ajus ^a (95% CI)
Non-smoker mothers^b							
No	168 (51.9)	81 (56.6)	32 (66.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	156 (48.1)	62 (43.4)	16 (33.3)	0.82 (0.56-1.23)	0.96 (0.63-1.47)	0.54 (0.28-1.02)	0.66 (0.34-1.29)
Former smokers mothers^c							
No	34 (38.6)	13 (24.1)	8 (50.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	54 (61.4)	41 (75.9)	8 (50.0)	1.99 (0.93-4.23)	1.88 (0.81-4.34)	0.63 (0.22-1.84)	0.78 (0.22-2.75)
Smoker mothers^d							
No	15 (18.3)	4 (14.7)	2 (33.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	67 (81.7)	29 (85.3)	4 (66.7)	1.29 (0.43-3.91)	1.62 (0.43-6.14)	0.45 (0.08-2.68)	0.67 (0.07-6.10)
Exposure amount during pregnancy (cigarettes per day)^d							
No use	304 (71.9)	137 (71.0)	48 (81.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
1-5	62 (14.7)	34 (17.6)	7 (11.9)	1.22 (0.77-1.94)	1.18 (0.70-2.02)	0.72 (0.31-1.65)	0.69 (0.27-1.74)
6-19	53 (12.5)	13 (6.7)	4 (6.8)	0.54 (0.29-1.03)	0.61 (0.30-1.24)	0.48 (0.17-1.38)	0.37 (0.11-1.28)
20+	4 (0.9)	9 (4.7)	0 (0.00)	4.99 (1.51-16.49)	5.28 (1.40-19.95)	0.00	0.00
				p trend=0.75		p trend = 0.09	
Exposure length (years)							
0-5	18 (24.0)	3 (12.5)	1 (25.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
6-9	21 (28.0)	7 (29.2)	1 (25.0)	2.00 (0.45-8.89)	1.43 (0.29-7.06)	0.86 (0.05-14.71)	0.51 (0.02-11.15)
10-14	16 (21.3)	6 (25.0)	1 (25.0)	2.25 (0.48-10.50)	1.24 (0.21-7.43)	1.13 (0.07-19.50)	1.00 (0.04-21.74)
15+	20 (26.7)	8 (33.3)	1 (25.0)	2.40 (0.55-10.46)	1.74 (0.29-10.32)	0.90 (0.05-15.47)	0.22 (0.00-15.52)
				p trend = 0.32			

a- Adjusted OR by maternal age at birth, maternal education, oral contraceptives use during pregnancy, birth weight, and infant skin color.

b- Non-smokers mothers living with smokers.

c- Former smoker mothers living with smokers.

d- Smoker mothers living with smokers.

e- Mean daily maternal cigarettes consumption during pregnancy.

Table 4 – Maternal smoking by tobacco consumption burden, leukemia cases, and control mothers, children < 2 year, Brazil, 1999-2007

Timing of exposure / smoking burden	Controls (n=423), n (%)	ALL (n=193), n (%)	AML (n=59), n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	OR Ajust ^a (95% CI)	OR (95% CI)	OR Ajust ^a (95% CI)
Preconceptional ^b							
Non-smokers	304 (71.9)	137 (71.0)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Smokers	109 (25.7)	45 (23.3)	11 (18.6)	0.92 (0.61-1.37)	0.93 (0.59-1.45)	0.65 (0.33-1.30)	0.59 (0.27-1.28)
Heavy Smokers	10 (2.4)	11 (5.7)	1 (1.7)	2.44 (1.01-5.88)	2.52 (0.95-6.72)	0.65 (0.81-5.17)	0.80 (0.93-6.90)
1 st Trimester							
Non-smokers	354 (83.7)	154 (79.8)	53 (89.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Smokers	65 (15.4)	33 (17.1)	5 (8.5)	1.17 (0.74-1.85)	1.10 (0.65-1.82)	0.51 (0.20-1.33)	0.44 (0.15-1.31)
Heavy Smokers	4 (0.9)	6 (3.1)	1 (1.7)	3.45 (0.96-12.39)	3.35 (0.75-15.0)	1.67 (0.18-15.23)	2.70 (0.27-26.5)
2 nd Trimester							
Non-smokers	356 (84.2)	164 (85.0)	54 (91.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Smokers	65 (15.4)	23 (11.9)	4 (6.8)	0.77 (0.46-1.28)	0.47 (0.02-0.92)	0.41 (0.14-1.16)	0.17 (0.01-2,14)
Heavy Smokers	2 (0.4)	6 (3.1)	1 (1.7)	6.51(1.30- 32.0)	6.82 (1.09-43.0)	3.30 (0.30-37.0)	5.97 (0.47-76.0)
3 rd Trimester							
Non-smokers	357 (84.4)	165 (85.5)	54 (91.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Smokers	64 (15.2)	22 (11.4)	4 (6.8)	0.74 (0.44-1.25)	0.96 (0.54-1.69)	0.41 (0.14-1.16)	0.43 (0.10-1.18)
Heavy Smokers	2 (0.4)	6 (3.1)	1 (1.7)	6.49 (1.30-32.0)*	6.81 (1.09-42.69)*	3.30 (0.30-37.0)	6.03 (0.47-77.0)
Breastfeeding ^c							
Non-smokers	357 (84.4)	164 (85.0)	55 (93.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Smokers	64 (15.2)	22 (11.4)	3 (5.1)	0.75 (0.45-1.26)	0.94 (0.53-1.66)	0.30 (0.09-1.00)	0.37 (0.11-1.28)
Heavy Smokers	2 (0.4)	7 (3.6)	1 (1.7)	7.62 (1.57-32.0)	7.78 (1.33-45.5)	3.25 (0.29-36.4)	6.05 (0.47-77.0)

a- Adjusted OR by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at birth, maternal education, birth weight and infant skin color. 3 months before pregnancy. 3 months after birth.

Acknowledgements

This investigation was supported by the Brazilian National Research Council (CNPq), Instituto Nacional de Cancer-Fundação Ary Frauzino, and the Swiss Bridge Foundation. JDF and ACC have been supported by post-graduation fellowships from the Ministry of Education of Brazil . MSPO and SK have been supported by CNPq research grants, #309091/2007-1 and # 577598/2008-2, respectively. This research project was granted by INCT-Controle do Cancer; CNPq grant #573806/2008-0, and the State of Rio de Janeiro Research Foundation (FAPERJ), grant E026/2008.

Conflict of Financial Interests

The authors declare that there are not competing financial conflicts of interests.

Appendix .

List of pediatricians and researchers from the *Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia* who have contributed as co-authors to the study

Jane Dobbin¹ , Jozina Maria de Andrade Agareno², Alejandro Aranciba³, Flávia Nogueira Serafim Araújo², Rosania Baseggio⁴, Reinaldo Del Belo¹, Silvia Brandalise ⁵, Lilian M Burlacchini de Carvalho⁶, Eni Guimarães de Carvalho⁶, Tereza Cristina Cardoso⁶, Imaruí Costa⁷, Jose Carlos Cordoba⁸, Virginia M Coser⁹, Maria Lucia Lee ¹⁰ , Renato Melarangno³, Núbia Mendonça², Isis Q Magalhães⁸, Atalla Mnayarji⁴, Cynthia Curvello Neves², Flávia Pimenta¹¹, Mara A.D.Pianovsky^{c2}, Vitória Pinheiro⁵, Terezinha JM Salles¹³, Fernando Werneck ¹⁴ and César Bariani ¹⁵

¹ Research Center and Hematology Service, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, RJ

² Pediatric Hematology-Oncology Service, Hosiptal Santa Izabel, Salvador, BA

³ Pediatric Hematology-Oncology Service, Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

⁴ Pediatric Hematology-Oncology Service, Hospital Rosa Pedrossian, Campo Grande, MS

⁵ Centro Infantil de Investigações Hematológicas D. Boldrini, Campinas, SP

⁶ Pediatric Hematology-Oncology Service, Hospital Martagão Gesteira, Salvador, BA

⁷ Pediatric Hematology-Oncology Service, Hospital Joana de Gusmão, Florianópolis, SC

⁸ Hospital de Apoio Brasília, Unidade de Onco-Hematologia Pediátrica, Brasília, DF

⁹ Departamento de Hematologia, Universidade de Santa Maria, Santa Maria, RS

¹⁰ Pediatric Oncology Institute- GRAAC, São Paulo, SP

¹¹ Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa, PB

¹² Hospital Pegueno Principe, Curitiba, PR

¹³ Hospital Oswaldo Cruz, CEON, Recife, PE

¹⁴ Pediatric Oncology Section, Hospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro, RJ

¹⁵ Serviço de Transplantes de Medula do Hospital Araújo Jorge, Goiania, GO

References

Amos, A. et al (2012). Women and tobacco: a call for including gender in tobacco control research, policy and practice. *Tob Control* 21, 236-243.

Chang, J. S. et al. (2006). Parental Smoking and the Risk of Childhood Leukemia. *Am J Epidemiol*, 163, 1091-1100.

de la Chica, R. A. et al. (2005). Chromosomal instability in amniocytes from fetuses of mothers who smoke. *JAMA* 293, 10, 1212–1222.

Einarson A, Riordan S. (2009). Smoking in pregnancy and lactation: a review of risks and cessation strategies. *Eur J Clin Pharmacol* 65, 4, 325-330.

Fraga, C. G. et al. (1996). Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA. *Mutat Res* 351,199–203.

Ginsberg, G. et al. (2002). Evaluation of child/adult pharmacokinetic differences from a database derived from the therapeutic drug literature. *Toxicol Sci* 66, 185–205.

Guerquin, M. J. et al. (2009). Sex-specific differences in fetal germ cell apoptosis induced by ionizing radiation. *Hum Reprod* 24, 3, 670–678.

Hackshaw, A. et al. (1997). The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ* 315, 980-988.

Hecht, S. S. (1999). Tobacco Smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 91, 14, 1194-1210.

Hoffmann, D., Hoffmann, I., El-Bayoumy, K. (2001). The less harmful cigarette. A controversial issue. Atribute to Ernst L. Wynder. *Chem. Res. Toxicol.* 14, 767-790.

IARC. (2004) Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Tobacco smoking and involuntary tobacco smoke. vol. 83. Lyon: IARC.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD). Tabagismo, 2008.* Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad2008/suplementos/tabagismo/pnad-tabagismo.pdf> [Acess 2011 dec 15].

Korte, J. E., Hertz-Picciotto, I., Schulz, M. R., Ball, L. M., Duell, E. J. (2000). The contribution of benzene to smoke-induced leukemia. *Environ. Health Perspect.* 108, 333-339.

Lambers, D. S., Clark, K. E. (1996). The maternal and fetal physiologic effects of nicotine. *Semin Perinatol* 20, 115–126.

Lee, K. M. et al. (2009). Paternal smoking, genetic polymorphisms in CYP1A1 and childhood leukemia risk. *Leuk Res.* Feb, 33, 2, 250-258.

Lombardi, E.M. et al (2010). Women and smoking: risks, impacts, and challenges. *J Bras Pneumol.* 2011 Feb;37(1):118-28.

MacArthur, A. C et al. (2008). Risk of childhood leukemia associated with parental smoking and alcohol consumption prior to conception and during pregnancy: the cross-Canada childhood leukemia study. *Cancer Causes Control* 19, 283–295.

Mackay, J., Eriksen, M. (2002). *The tobacco atlas*. Geneva: World Health Organization.

Marschalek R (2011). Mechanisms of leukemogenesis by MLL fusion proteins. *Br J Haematol* 152, 141-154.

Menegaux, F. et al. (2005). Maternal coffee and alcohol consumption during pregnancy, parental smoking and risk of childhood acute leukemia. *Cancer Detection and Prevention* 29, 6, 487-493.

Menegaux, F. et al. (2007). Maternal alcohol and coffee drinking, parental smoking and childhood leukemia: a French population-based case-control study. *Pediatric and Perinatal Epidemiology* 21, 4, 293-299.

Milne, E. et al. (2012). Parental prenatal smoking and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Am J Epidemiol*. Jan 175, 1, 43-53.

Pang, D. et al. (2003). Parental smoking and childhood cancer: results from the United Kingdom Childhood Cancer Study. *Br J Cancer* 88, 3, 373-381.

Pombo-de-Oliveira, M. S. et al. (2006). Infant acute leukemia and maternal exposures during pregnancy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15, 2336-2341.

Potts, R. J. et al. (1999). Sperm chromatin damage associated with male smoking. *Mutat Res* 423, 1-2, 103–111.

Pluth, J. M. et al. (2000). Role of maternal exposures and newborn genotypes on newborn chromosome aberration frequencies. *Mutat Res* 465, 101–111.

Rahman, M. A. et al. (2012). Pesticide residues in tobacco leaves from the Kushtia district in Bangladesh. *Bull Environ Contam Toxicol* 89, 3, 658-663.

Rothman, N. et al. (1997). Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the NQO1609 C → T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone. *Cancer Res* 57, 2839–2842.

Rudant, J. et al. (2008). Childhood hematopoietic malignancies and parental use of tobacco and alcohol: the ESCALE study (SFCE). *Cancer Causes Control* Dec 19, 10, 1277-1290.

Secretan, B. et al. (2009). A review of human carcinogens – Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *Lancet Oncol* 10, 1033-1034.

Shi, Q. et al. (2001). Cigarette smoking and aneuploidy in human sperm. *Mol Reprod Dev* 59, 417–421.

Shu, X. O. et al. (1996). Parental alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of infant leukemia: a Childrens Cancer Group study. *J Natl Cancer Inst.* 88, 1, 24-31.

Sorahan, T. et al. (2001). Childhood cancer and parental use of tobacco: findings from the inter-regional epidemiological study of childhood cancer (IRESCC). *Br J Cancer* 84, 141–146.

Thielen, A. et al. (2008). Tobacco smoke: unraveling a controversial subject. *Exp Toxicol Pathol* 60, 2–3, 141–156.

Wacholder, S. et al. (1992). Selection of controls in case-control studies. I. Principles. *Am J Epidemiol* 135:1019-1028.

WHO. WHO *Report on the Global Tobacco Epidemic* (2009). Available in <http://www.who.int/tobacco/mpower/en/index.html> [Access 2011 Dec 15].

Wunsch Filho, V. et al. (2010). Tobacco smoking and cancer in Brazil: evidence and prospects. *Rev Bras Epidemiol* 13, 2, 175-187.

Yang, M. (2011). A current global view of environmental and occupational cancers. *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 29, 223-249.

Zhang J, et al.(2010).Detection of quinone oxidoreductase 1 (NQO1) single-nucleotide polymorphisms (SNP) related to benzene metabolism in immortalized B lymphocytes from a Chinese Han population. *J Toxicol Environ Health A* 73, 490-498.

6.2- 2º Artigo da tese:

Maternal alcohol consumption during pregnancy and early age leukemia risk in Brazil

Jeniffer Dantas Ferreira¹, Arnaldo Cézar Couto², Mariana Emerenciano³, Maria S. Pombo-de-Oliveira^{*3}, Sergio Koifman^{**1}, *Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia*⁴.

¹ Environment and Public Health Post-graduation Program, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rua Leopoldo Bulhões 1480, Rio de Janeiro, Brazil, 21041-210

²State University Center of the West Zone (UEZO), Rua Manuel Caldeira de Alvarenga, 1.203, Rio de Janeiro,RJ, Brazil, 23070-200

³Pediatric Hematology-Oncology Program, Research Center, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rua André Cavalcanti 37, Rio de Janeiro,RJ, Brazil, 20231-050.

⁴Members of the Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia are listed in the appendix.

***Corresponding author:** Maria S. Pombo-de-Oliveira, MD, PhD, Pediatric Hematology-Oncology Program, Research Center, Instituto Nacional de Câncer - INCA, Rua André Cavalcanti, 37. Rio de Janeiro/RJ – Brasil. Zip code: 20231-050; Phone: +55 21 3207-6532; e-mail: mpombo@inca.gov.br

****** *inmemorium*

Abstract

Objectives. To investigate the association between the maternal alcohol consumption during pregnancy and early age leukemia (EAL) in offspring. **Methods.** Datasets were analyzed from a case-control study carried out in Brazil during 1999–2007. Data were obtained by maternal interviews using a standardized questionnaire. The present study included 675 children (193 acute lymphoid leukemia (ALL), 59 acutemyeloid leukemia (AML), and 423 controls). Unconditional logistic regression was performed, and adjusted odds ratios (adj. OR) on the association between alcohol consumption and EAL were ascertained. **Results.** Alcohol consumption was reported by 43% of ALL and 39% of AML case mothers and 35.5% of controls'. Beer consumption before and during pregnancy was associated with ALL in crude analysis (OR = 1.54, 95% CI, 1.08–2.19), although in adjusted analysis no statistical significance was found. For weekly intake of ≤ 1 glass (adj. OR = 1.30, 95%CI, 0.71–2.36) and ≥ 1 glass/week (adj. OR= 1.47, 95% CI, 0.88–2.46) a potential dose-response was observed (P trend <0.03). **Conclusion.** This study failed to support the hypothesis of an increased risk of EAL associated with maternal alcohol intake during pregnancy, neither with the interaction with tobacco nor with alcohol consumption. However the level of perception of maternal report that in some circumstances are censured topics, may lead to imprecise exposure estimates. Therefore, EAL and maternal alcohol consumption should not be ruled out as an associated risk.

Keywords: Alcohol consumption, smoking, pregnancy, infant leukemia.

Introduction

Acute leukemia in early childhood, mainly those cases diagnosed within the first year of life- infant leukemia (IL) is seldom [21, 26]; IL deserves special attention because this group is biologically and clinically distinct from leukemia in older children [1]. The somatic gene mutations in clonal cells, for instances *MLL* gene rearrangements (*MLL-r*), constitute the biological basis of this hematopoietic malignancy that arises during fetal life [13, 15].

Although the etiology of the majority hematopoietic malignancies in children remains largely unknown, Down syndrome [20, 23], exposure to ionizing radiation [18] and certain chemotherapeutic agents [11, 34] are associated with increased risk of childhood acute leukemia. Previous researches demonstrated that for some childhood leukemia the causality factors are likely to be multiple and associated with leukemia subtype-specific, combining environmental exposures and genetic susceptibility modulation risk [5, 9].

Several studies conducted in the last decade demonstrated a positive association between childhood leukemia and maternal alcohol consumption during pregnancy [7, 31, 40, 41, 44] leading to the premises that maternal alcohol drinking during pregnancy could cause DNA damage during the preconceptions in gametes cells or during pregnancy in fetal cells. Ethanol was established as a teratogen substance that produces pre- and postnatal growth deficiency according to experimental models [6]. Recently, additional epidemiological observations confirmed the previous studies, but findings with low risk association estimates could be a consequence of methodological approaches [19, 27-30,38].

Several chemical and biological mechanisms likely contribute to the damaging effects of alcohol exposure on the developing fetus. The toxic metabolite acetaldehyde resulted by the break-down of alcohol in the liver and other tissues, plays a major role in the tumor-promoting effect demonstrated by animal models [16, 17]. Transplacental crossover alcohol metabolites was measured and similar fetal and mother alcohol concentration rates were observed, leading to the conclusive evidence that the amniotic fluid acts as a reservoir of alcohol toxic metabolites [4, 22]. Other suggested mechanisms for carcinogenic pathways include cell death by apoptosis, increased oxidative stress and facilitation of cellular entry for other carcinogens [25].

In order to test the hypothesis that maternal exposure to alcohol consumption would be associated with early age leukemia (EAL), we analyzed acute lymphoblastic (ALL) and myeloid (AML) cases included in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant Leukemia (BCSGIAL). The joint effect of maternal smoking exposure and alcohol consumption, as addictive effects were also tested.

Materials and Methods

Study Population. Cases and controls were assessed throughout a multicenter study “Multi-institutional Study of Infant Leukemia: Contribution of Immunomolecular Markers in Distinguishing Different Etiopathogenic Factors” that focuses on the investigation of EAL. It was a hospital-based study in which the participants were ascertained from different Brazilian regions [10, 33].

Case and controls ascertainment. Eligible cases were children with acute leukemia (ALL or AML) aged ≤ 24 months at the diagnosis, confirmed by cell morphology, immunophenotyping profile and standard cytogenetic-molecular methods [8]. The controls were selected children with non-malignant diseases that were attended in Hospitals where cases were recruited, and also from pediatric care centers in the same cities. They were frequency matched with leukemia cases according to age (≤ 24 months) and enrolled from the same geographic areas where cases were diagnosed. The reason for clinical assistances were viral infections and parasitic diseases (n=124, 29.4%); non-malignant hematological diseases (n=83, 19.6%); asthma and bronchitis (n=43, 10.2%); hemangioma (n=40, 9.4%); severe diarrhea (n=39, 9.2%); cardiovascular diseases (n= 25, 5.8%); and other non-malignant conditions (n=69, 16.4%).

The variables elected for the present analysis were obtained in a dataset built from 1999 to 2007. As soon as, the diagnosis of acute leukemia was established, the maternal exposure information was obtained through questionnaires. After the written informed consent was signed, a face-to-face interview was applied to mother of cases and controls. Previous data about different maternal exposures and smoking during pregnancy used herein as a basis for interaction analysis are described elsewhere [12, 33]. The content of questionnaires included data about family income, maternal age at child birth, education level, illness previous history to conception, medication use, occupation, personal habits, and the child's birth characteristics. The exposure assessment to smoking exposure was determined by the qualitative analysis (yes/no) during the three months before the index pregnancy, the three trimesters of the

pregnancy, as well as, after birth during the breastfeeding period. Levels of pregnancy smoking were categorized as: non-smokers; moderate smokers (1-20 cigarettes/day); heavy smokers (≥ 20 cigarettes/day) [12].

Likewise the exposure assessment to maternal alcohol consumption, mothers were asked whether they had ever drunk alcohol (yes/no), occasionally on a regular basis, during the three months before the index pregnancy and during pregnancy. Then, further questions were also collected to elucidate the frequency and amount of beverage consumption by number of wine glasses, beer, or spirit drinks per week. Answers were classified as: abstainers (0 glass/week), occasional drinkers (by alcohol consumption less than one glass per/week) and frequent drinkers (alcoholic intake more than one glass per/ week).

Exclusion Criteria. Children with genetic syndromes, myelodysplasia, malignant tumor, adoptive parents, or unknown biological mothers, were not eligible to the study (cases and/or controls groups). The frequency rate of acceptance of invited mothers (cases and controls) was 96% and 95%, respectively [33].

Ethical Aspect. This study used primary data obtained from the project “Multi-institutional Study of Infant Leukemia: Contribution of Immunomolecular Markers in Distinguishing Different Etiopathogenic Factors”. This investigation was approved by the Research Ethics Committee of the Instituto Nacional de Câncer, (CEP #005/06) and by Research Ethics Committee of Oswald Cruz Foundation, (CEP #864794/14).

Statistical Analysis. The sample size calculation was performed considering the percentage of exposed controls of the same exposure to alcohol casual women in childbearing age (36%, as in the Brazilian National Anti-drug Secretary Survey), the ratio of 2 controls per case, 80% power of study, with a confidence interval 95%. Unconditional logistic regression was performed to estimate the magnitude of association between maternal alcohol consumption and EAL, being the respective odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (CI) ascertained after adjustment for birth weight (< 4,000 g, ≥ 4,000 g), child's ethnicity (Whites or Non-whites), maternal age at index birth (< 35 years, ≥ 35 years), maternal education level (≤ 8 years, > 8 years) and oral contraceptive intake during pregnancy (no use, use during pregnancy), previously identified as confounders in the studied dataset [33]. To test the interaction between maternal alcohol consumption and tobacco smoking and the risk of EAL, statistical assessment of effect modification was performed on a multiplicative model by fitting models containing both main effects (smoking and alcohol consumption) and their cross-product terms nested models adjusted for the confounders mentioned above. Assuming independence for both maternal smoking and drinking, the period during pregnancy were considered as independent variables in the model, referring to a baseline category of abstainers' drinkers and non-smokers.

Results

The demography distribution of cases and controls is shown in Table 1. There were 116 IL cases (46.0%), a higher proportion of Whites observed among all EAL

cases (67.5%) than controls (36.2%), $p < 0.01$. The majority of EAL cases (61.95%) and controls (56.0%) were enrolled in the Southeastern cities, with the Northeast cities running second, respectively, 20.6% and 24.1%. Mothers of cases were older than mothers of controls ($p < 0.01$). Maternal levels of education were higher among cases ($p < 0.01$).

Maternal alcohol consumption before (3 months preconception) and during pregnancy was evaluated as potential risk factor for EAL as shown in Table 2; 150 out of 423 mothers of controls (35.5%) had reported alcohol consumption, either preconception or during pregnancy, whereas, 106 out of 252 EAL mothers (42.1%) reported use of alcoholic beverages without differences between mothers of ALL and mother of AML. Maternal alcohol intake both before and during pregnancy was observed in 55% of ALL and 48% of AML cases (kappa p -value < 0.001 for both). Maternal beer consumption less than 1 glass/week during preconception significantly increased the risk for ALL as crude OR= 1.84 (95% CI 1.12- 3.04). All adjusted OR analysis performed to test alcohol exposure during pregnancy and EAL demonstrated no statistically significant results. However, an adj. OR, =1.30 (95% CI 0.71-2.36) for weekly beer intake of ≤ 1 glass, and adj. OR= 1.47 (95% CI 0.88-2.46) for >1 glass shown a p trend < 0.03 in the ALL subtype. Mothers of ALL cases have not reported spirits consumption during pregnancy. Depending on the type of reported alcoholic beverage consumption in the pre-conception, risk estimates were slightly more pronounced for spirits in AML, adj. OR=3.61 (95% CI 0.83-15.7) than for beer, adj. OR=1.13 (95% CI 0.60-2.14) and other beverages, adj. OR=2.16 (95% CI 0.74-6.35).

According to maternal alcoholic consumption in the same period and ALL development in the offspring, an adj. OR=1.36 (95% CI 0.91-2.03) was observed for

reported beer consumption, and adj. OR=0.84 (95% CI 0.22-3.29) for spirits consumption, and an adj. OR=1.48 (95% CI 0.74-2.96) for other beverages consumption.

Maternal alcohol drinking in preconception and/or during pregnancy and the risk of EAL offspring's according to child age strata and leukemia subtypes were tested (Table 3). For infant-ALL (age stratum ≤ 11 months) although not statistically significant an increased OR was observed (adj. OR = 1.29, 95% CI 0.73-2.27) for any beverages ever consumption. These risk estimates were adj. OR = 1.56, 95% CI 0.88-2.79, for alcoholic consumption in the preconception period, and an adj. OR=1.49, 95% CI 0.77-2.89 during pregnancy. In the stratum of children older than 12 months, the higher estimates were observed for AML cases, adj. OR= 1.49, 95% CI 0.61-3.61, for maternal alcohol ever consumption.

To evaluate the interaction between maternal alcohol consumption and tobacco smoking and the risk of EAL, a logistic regression analysis was performed and results are shown in Table 4. The OR magnitude of exposure did not vary between models, which resulted in a non-statistically significant results to the overall models analyzed.

Discussion

Several studies demonstrated a positive association between maternal alcohol consumption during prenatal or pregnancy and childhood leukemia [28, 29, 40-42, 44]. Alcohol consumption during pregnancy may affects fetal cells and are consequently associated with several health hazards, including miscarriages, fetal distress, prematurity, malformations, fetal growth retardation, infections, neurological and

respiratory sequels, in addition to intellectual disabilities [2, 14]. This study was not able to determine the strength or direction of any association with maternal alcohol intake. Beer was the beverage most commonly consumed by mothers in this study. Other than beer, few mothers reported high intake levels of spirits and wines. A slight increase in ALL risk following the amount of beer consumption at preconception period was observed, adj. OR=1.30 (95% CI 0.71-2.36) for weekly intakes of ≤ 1 glass and adj. OR= 1.47 (95% CI 0.88-2.46) for > 1 cup, p trend < 0.03 . Data from Brazilian Anti-drug Secretary Survey indicated that 9-12% of women between 18 to 44 years of age reported alcohol consumption on a regular basis and 38-44% of women in the reproductive age were abstainers. According to this survey, beer is the most popular beverage choice, pointed by 58% of Brazilian women, followed by wine (34%) and spirits (14%) [24]. Of note, the overall frequencies of abstainers mothers in this epidemiological study was 59.8%, and similar to those reported in population-based surveys [24], beer was by far the preference. The different patterns and types of alcohol drinks consumed according to distinct socio-economic status in Brazil should be considered, maternal wine consumption is relatively low compared to other studies that provided this information [29, 30].

This null association between maternal alcohol consumption and EAL risk regardless all the period of exposure during pregnancy is consistent with the literature data, similar to overall childhood risks, that pointed out an inverse association especially according to wine intake, OR= 0.7 (95% CI 0.5-0.9) [29, 32, 39]. Slater et al, reported an statistically significant inversed association between maternal alcohol use during pregnancy and IL [42]. In the Canadian, France and Australian studies, wines are the

beverage most consumed. Milne et al. also observed *U*-shaped associations with paternal alcohol consumption in the year before pregnancy, by reduced risk at moderate levels of wine and beer consumption and increased risk associated with high levels of beer intake [30]. Wines contain antioxidant compounds, such as polyphenols, that possibly accomplish the protective effect of DNA damaging of ethanol and acetaldehyde [30]. Nonetheless this speculation is in opposite direction to the causative effect of polyphenols in IL proposed [1]. IL is strongly associated with *MLL-r*, mainly in ALL cases diagnosed before the first year of life [10]. The confirmation of the same *MLL-r* by retrospective analyses of neonatal blood has led to the proposal that transplacental exposure to topoisomerase-II inhibitors during pregnancy would be one of the causation factor of IL [1, 33, 43]. Based on experiments that demonstrated block of topoisomerase-II function by some substances, including phenols, which inhibit the re-sealing of broken DNA-strand ends, the formation of *MLL* translocations would be associated with exposures to such substances [35, 36].

Alcohol drinking is a behavior that often accompanies tobacco smoking, and its role in childhood cancer causality is scarce [27, 41]. The interaction between of maternal alcohol consumption and tobacco smoking as addictive effect in the risk of EAL was tested. The risk magnitudes for a model assuming effect modification were compared with the baseline model assuming independence of effects, but no effect modification was observed in strength of the associations.

This analysis has some limitations as consequence of case-control study in such rare settings. The hospital-based case-control study design may introduce selection bias depending on the chosen comparison groups [37]. Therefore, we recruited controls

with a variety of indications for hospitalization and enrolled controls from general hospitals in the same cities, though not necessarily the same hospitals, in which the cases were diagnosed. As in the majority of the case-control approach, the analysed data of variables were dependent on level of perception of maternal report (more accurate in mothers' cases) for variables such as drug and/or tobacco use (that might be caused their child leukemia) causing recall bias. Some possible explanation for the imprecise exposure estimates could be that some exposures were possibly being under-reported. Sample size was limited mainly to infant-AML and for stratified analysis based on *MLL* status. The reduced numbers of infants with low frequency of maternal exposures report make OR unstable, thus resulting in imprecise estimates of association. Another weakness of our study is the missing assess of paternal alcohol consumption that was not collected during the interviews.

On the other hand, the study has strengths regarding the large series of IL cases, given they are rare, compared with others studies that have tested childhood leukemia in older children.

Thereby, data from the use of tobacco smoking in this study did not show evidence of a modification effect by concomitant maternal use of alcohol and tobacco during pregnancy. In this regards, recently, our group demonstrated the increased risk association between maternal smoking and EAL with *MLL*-r modulated by genetic susceptibility [3]. The significant associations found could guide the design of other observational studies in childhood leukaemia, emphasizing the genetic susceptibility in the mechanistic pathway leading to leukaemia in early childhood.

Conclusion

This study does not support the hypothesis of an increased risk of EAL associated with maternal alcohol consumption during pregnancy. Additionally, no effect modification was observed in strength of the associations with maternal tobacco smoking and alcohol drinking. Nevertheless, parents should be advised to limit alcohol intake when planning a pregnancy due to the premise that alcohol metabolites cause DNA damage in gametes and fetal cells according to experimental models.

References

- [1] F. E. Alexander, S. L. Patheal, A. Biondi, S. Brandalise, M. E. Cabrera, L. C. Chan, Z. Chen, G. Cimino, J. C. Cordoba, L. J. Gu, H. Hussein, E. Ishii, A. M. Kamel, S. Labra, I. Q. Magalhaes, S. Mizutani, E. Petridou, M. P. de Oliveira, P. Yuen, J. L. Wiemels, and M. F. Greaves, "Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with MLL gene fusion," *Cancer Res*; vol.61, pp.2542-2546, 2001.
- [2] L. M. Anderson, S. K. Chhabra, P. V. Nerurkar, V. L. Souliotis, and S. A. Kyrtopoulos, "Alcohol-related cancer risk: a toxicokinetic hypothesis," *Alcohol*; vol.12, pp.97-104, 1995.
- [3] F. G. Andrade, J. M. Furtado-Silva, B. A. Goncalves, L. C. Thuler, T. C. Barbosa, M. Emerenciano, A. Siqueira, and M. S. Pombo-de-Oliveira, "RAS mutations in early age leukaemia modulated by NQO1 rs1800566 (C609T) are associated with second-hand smoking exposures," *BMC Cancer*; vol.14, pp.133, 2014.

- [4] L. Burd, J. Blair, and K. Dropps, "Prenatal alcohol exposure, blood alcohol concentrations and alcohol elimination rates for the mother, fetus and newborn," *J Perinatol*; vol.32, pp.652-659, 2012.
- [5] J. S. Chang, J. L. Wiemels, A. P. Chokkalingam, C. Metayer, L. F. Barcellos, H. M. Hansen, M. C. Aldrich, N. Guha, K. Y. Urayama, G. Scelo, J. Green, S. L. May, V. A. Kiley, J. K. Wiencke, and P. A. Buffler, "Genetic polymorphisms in adaptive immunity genes and childhood acute lymphoblastic leukemia," *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; vol.19, pp.2152-2163, 2010.
- [6] S. K. Clarren, and D. W. Smith, "The fetal alcohol syndrome," *N Engl J Med*; vol.298, pp.1063-1067, 1978.
- [7] S. Cnattingius, M. M. Zack, A. Ekbom, J. Gunnarskog, A. Kreuger, M. Linet, and H. O. Adami, "Prenatal and neonatal risk factors for childhood lymphatic leukemia," *J Natl Cancer Inst*; vol.87, pp.908-914, 1995.
- [8] M. Emerenciano, D. P. Agudelo Arias, V. M. Coser, G. D. de Brito, M. L. Macedo Silva, and M. S. Pombo-de-Oliveira, "Molecular cytogenetic findings of acute leukemia included in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant acute leukemia," *Pediatr Blood Cancer*; vol.47, pp.549-554, 2006.
- [9] M. Emerenciano, T. C. Barbosa, B. A. Lopes, C. B. Blunck, A. Faro, C. Andrade, C. Meyer, R. Marschalek, and M. S. Pombo-de-Oliveira, "ARID5B polymorphism confers an increased risk to acquire specific MLL rearrangements in early childhood leukemia," *BMC Cancer*; vol.14, pp.127, 2014.

- [10] M. Emerenciano, C. Meyer, M. B. Mansur, R. Marschalek, and M. S. Pombo-de-Oliveira, "The distribution of MLL breakpoints correlates with outcome in infant acute leukaemia," *Br J Haematol*, 2013.
- [11] C. A. Felix, M. R. Hosler, N. J. Winick, M. Masterson, A. E. Wilson, and B. J. Lange, "ALL-1 gene rearrangements in DNA topoisomerase II inhibitor-related leukemia in children," *Blood*; vol.85, pp.3250-3256, 1995.
- [12] J. D. Ferreira, A. C. Couto, M. S. Pombo-de-Oliveira, and S. Koifman, "Pregnancy, maternal tobacco smoking, and early age leukemia in Brazil," *Front Oncol*; vol.2, pp.151, 2012.
- [13] A. M. Ford, S. A. Ridge, M. E. Cabrera, H. Mahmoud, C. M. Steel, L. C. Chan, and M. Greaves, "In utero rearrangements in the trithorax-related oncogene in infant leukaemias," *Nature*; vol.363, pp.358-360, 1993.
- [14] C. R. Goodlett, and K. H. Horn, "Mechanisms of alcohol-induced damage to the developing nervous system," *Alcohol Res Health*; vol.25, pp.175-184, 2001.
- [15] M. F. Greaves, and J. Wiemels, "Origins of chromosome translocations in childhood leukaemia," *Nat Rev Cancer*; vol.3, pp.639-649, 2003.
- [16] R. Hamby-Mason, J. J. Chen, S. Schenker, A. Perez, and G. I. Henderson, "Catalase mediates acetaldehyde formation from ethanol in fetal and neonatal rat brain," *Alcohol Clin Exp Res*; vol.21, pp.1063-1072, 1997.
- [17] N. Homann, "Alcohol and upper gastrointestinal tract cancer: the role of local acetaldehyde production," *Addict Biol*; vol.6, pp.309-323, 2001.
- [18] IARC, "Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Ionizing Radiation," *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum*; vol.75, pp.1-508, 2000.

- [19] C. Infante-Rivard, and M. El-Zein, "Parental alcohol consumption and childhood cancers: a review," *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*; vol.10, pp.101-129, 2007.
- [20] I. Khan, S. Malinge, and J. Crispino, "Myeloid leukemia in Down syndrome," *Crit Rev Oncog*; vol.16, pp.25-36, 2011.
- [21] R. S. Kotecha, N. G. Gottardo, U. R. Kees, and C. H. Cole, "The evolution of clinical trials for infant acute lymphoblastic leukemia," *Blood Cancer J*; vol.4, pp.e200, 2014.
- [22] V. L. Kvigne, B. Randall, E. G. Simanton, G. Brenneman, and T. K. Welty, "Blood alcohol levels for American Indian mothers and newborns," *Pediatrics*; vol.130, pp.e1015-1018, 2012.
- [23] B. Lange, "The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with Down's syndrome," *Br J Haematol*; vol.110, pp.512-524, 2000.
- [24] R. Laranjeira, I. Pinsky, M. Zaleski, R. Caetano, and P. C. A. V. Duarte, I Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira. "Presidência da República, Secretaria Nacional Antidrogas," pp 1-76, 2007.
- [25] C. S. Lieber, H. K. Seitz, A. J. Garro, and T. M. Worner, "Alcohol-related diseases and carcinogenesis," *Cancer Res*; vol.39, pp.2863-2886, 1979.
- [26] A. M. Linabery, and J. A. Ross, "Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992-2004)," *Cancer*; vol.112, pp.416-432, 2008.
- [27] A. C. MacArthur, M. L. McBride, J. J. Spinelli, S. Tamaro, R. P. Gallagher, and G. Theriault, "Risk of childhood leukemia associated with parental smoking and alcohol consumption prior to conception and during pregnancy: the cross-Canada childhood leukemia study," *Cancer Causes Control*; vol.19, pp.283-295, 2008.

- [28] F. Menegaux, M. Ripert, D. Hemon, and J. Clavel, "Maternal alcohol and coffee drinking, parental smoking and childhood leukaemia: a French population-based case-control study," *Paediatr Perinat Epidemiol*; vol.21, pp.293-299, 2007.
- [29] F. Menegaux, C. Steffen, S. Bellec, A. Baruchel, B. Lescoeur, G. Leverger, B. Nelken, N. Philippe, D. Sommelet, D. Hemon, and J. Clavel, "Maternal coffee and alcohol consumption during pregnancy, parental smoking and risk of childhood acute leukaemia," *Cancer Detect Prev*; vol.29, pp.487-493, 2005.
- [30] E. Milne, K. R. Greenop, R. J. Scott, N. H. de Klerk, C. Bower, L. J. Ashton, J. A. Heath, and B. K. Armstrong, "Parental alcohol consumption and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia and brain tumors," *Cancer Causes Control*; vol.24, pp.391-402, 2013.
- [31] G. Obe, and H. Ristow, "Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol," *Mutat Res*; vol.65, pp.229-259, 1979.
- [32] E. Petridou, D. Trichopoulos, V. Kalapothaki, A. Pourtsidis, M. Kogevinas, M. Kalmanti, D. Kolioukas, H. Kosmidis, J. P. Panagiotou, F. Piperopoulou, and F. Tzortzatou, "The risk profile of childhood leukaemia in Greece: a nationwide case-control study," *Br J Cancer*; vol.76, pp.1241-1247, 1997.
- [33] M. S. Pombo-de-Oliveira, and S. Koifman, "Infant acute leukemia and maternal exposures during pregnancy," *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; vol.15, pp.2336-2341, 2006.
- [34] C. H. Pui, and M. V. Relling, "Topoisomerase II inhibitor-related acute myeloid leukaemia," *Br J Haematol*; vol.109, pp.13-23, 2000.

- [35] J. A. Ross, J. D. Potter, G. H. Reaman, T. W. Pendergrass, and L. L. Robison, "Maternal exposure to potential inhibitors of DNA topoisomerase II and infant leukemia (United States): a report from the Children's Cancer Group," *Cancer Causes Control*; vol.7, pp.581-590, 1996.
- [36] J. A. Ross, J. D. Potter, and L. L. Robison, "Infant leukemia, topoisomerase II inhibitors, and the MLL gene," *J Natl Cancer Inst*; vol.86, pp.1678-1680, 1994.
- [37] J. Rudant, J. Clavel, and C. Infante-Rivard, "Selection bias in case-control studies on household exposure to pesticides and childhood acute leukemia," *J Expo Sci Environ Epidemiol*; vol.20, pp.299-309, 2010.
- [38] J. Rudant, F. Menegaux, G. Leverger, A. Baruchel, A. Lambilliotte, Y. Bertrand, C. Patte, H. Pacquement, C. Verite, A. Robert, G. Michel, G. Margueritte, V. Gandemer, D. Hemon, and J. Clavel, "Childhood hematopoietic malignancies and parental use of tobacco and alcohol: the ESCALE study (SFCE)," *Cancer Causes Control*; vol.19, pp.1277-1290, 2008.
- [39] J. Schuz, P. Kaatsch, U. Kaletsch, R. Meinert, and J. Michaelis, "Association of childhood cancer with factors related to pregnancy and birth," *Int J Epidemiol*; vol.28, pp.631-639, 1999.
- [40] R. K. Severson, J. D. Buckley, W. G. Woods, D. Benjamin, and L. L. Robison, "Cigarette smoking and alcohol consumption by parents of children with acute myeloid leukemia: an analysis within morphological subgroups--a report from the Childrens Cancer Group," *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; vol.2, pp.433-439, 1993.

- [41] X. O. Shu, J. A. Ross, T. W. Pendergrass, G. H. Reaman, B. Lampkin, and L. L. Robison, "Parental alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of infant leukemia: a Children's Cancer Group study," *J Natl Cancer Inst*; vol.88, pp.24-31, 1996.
- [42] M. E. Slater, A. M. Linabery, C. K. Blair, L. G. Spector, N. A. Heerema, L. L. Robison, and J. A. Ross, "Maternal prenatal cigarette, alcohol and illicit drug use and risk of infant leukaemia: a report from the Children's Oncology Group," *Paediatr Perinat Epidemiol*; vol.25, pp.559-565, 2011.
- [43] L. G. Spector, Y. Xie, L. L. Robison, N. A. Heerema, J. M. Hilden, B. Lange, C. A. Felix, S. M. Davies, J. Slavin, J. D. Potter, C. K. Blair, G. H. Reaman, and J. A. Ross, "Maternal diet and infant leukemia: the DNA topoisomerase II inhibitor hypothesis: a report from the children's oncology group," *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; vol.14, pp.651-655, 2005.
- [44] C. M. van Duijn, H. A. van Steensel-Moll, J. W. Coebergh, and G. E. van Zanen, "Risk factors for childhood acute non-lymphocytic leukemia: an association with maternal alcohol consumption during pregnancy?," *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; vol.3, pp.457-460, 1994.

Table 1 – Distribution of selected maternal and child demography of early age leukemia and controls, Brazil, 1999-2007 (*).

	Cases ** N (%)	Controls N (%)	p-value
Age			
≤11mo.	116 (46.0)	255 (60.2)	< 0.01
12-24mo.	136 (53.9)	168 (39.8)	
Gender			
Males	130 (51.6)	226 (53,4)	0.643
Females	122 (48.4)	197 (46,6)	
Birth Weight			
< 4,000g	234 (92.8)	393 (93.0)	0.470
> 4,000g	16 (6.2)	21 (5.0)	
Ethnicity			
Whites	170 (67.5)	153 (36.2)	< 0.01
Non-whites	77 (30.5)	256 (60.5)	
Place of birth			
Northeast	52 (20.6)	101 (24.1)	0.552
Midwest	18 (7.1)	31 (7.3)	
Southeast	155 (61.5)	237 (56.0)	
South	27 (10.7)	53 (12.5)	
Maternal age^a			
<18 years	8 (3.2)	60 (14.1)	< 0.01
18-24 years	91 (36.1)	182 (42.9)	
25-34 years	117 (46.4)	145 (34.2)	
>35 years	36 (14.3)	36 (8.8)	
Maternal Education			
<8 years	81 (32.1)	206 (48.6)	< 0.01
>8 years	146 (57.9)	209 (49.4)	
Total	252 (100)	423 (100)	-

Abbreviations: a, maternal age at child delivery; N, number of cases; mo.= months.
 (*) data presented in Ferreira J.D. et al, 2012 2 (151):1-18 [Ref.12]; ** include acute lymphoblastic leukemia, n=193 and acute myeloid leukemia, n=59.

Table 2 - Maternal alcohol consumption preconception and/or during pregnancy, early age leukemia and control mothers, Brazil, 1999-2007.

Maternal Alcohol Drinking	Controls n (%)	ALL n (%)	AML n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	Adj.OR ^a (95% CI)	OR (95% CI)	Adj.OR ^a (95% CI)
No	261 (61.7)	107 (55.4)	36 (61.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	150 (35.5)	83 (43.0)	23 (39.0)	1.35 (0.95-1.92)	1.21 (0.81-1.80)	1.11 (0.64-1.95)	1.17 (0.63-2.18)
Missing	12 (2.8)	3 (1.6)	0 (0.0)				
Beer							
Preconception							
No	273 (64.5)	108 (56.0)	38 (64.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	135 (32.0)	82 (42.5)	21 (35.6)	1.54 (1.08-2.19)	1.36 (0.91-2.03)	1.12 (0.63-1.98)	1.13 (0.60-2.14)
Missing	15 (3.5)	3 (1.5)	0 (0.0)				
≤ 1 glass/week	46 (10.9)	32 (16.6)	12 (20.3)	1.84 (1.12-3.04)	1.30 (0.71-2.36)	1.87 (0.91-3.84)	2.06 (0.90-4.76)
> 1 glass/week	66 (15.6)	39 (20.2)	6 (10.2)	1.44 (0.91-2.28)	1.47 (0.88-2.46)	0.65 (0.26-1.60)	0.75 (0.29-1.94)
Missing	38 (9.0)	14 (7.2)	3 (5.1)				
				p trend=0.03		p trend= 0.68	
During Pregnancy							
No	337 (79.7)	146 (75.6)	52 (88.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	73 (17.3)	44 (22.8)	7 (11.9)	1.39 (0.91-2.12)	1.29 (0.78-2.14)	0.62 (0.27-1.43)	0.84 (0.35-2.00)
Missing	13 (3.0)	3 (1.5)	0 (0.0)				
≤ 1 glass/week	27 (6.4)	21 (16.6)	4 (6.8)	1.80 (0.98-3.28)	1.13 (0.50-2.52)	0.96 (0.32-2.86)	1.38 (0.43-4.42)
> 1 glass/week	34 (8.0)	19 (20.2)	1 (1.7)	1.29 (0.71-2.34)	1.43 (0.74-2.77)	0.19 (0.03-1.42)	0.21 (0.28-1.63)
Missing	25 (5.9)	7 (3.6)	2 (3.4)				
				p trend= 0.17		p trend= 0.07	
Spirits							
Preconception							
No	397 (93.9)	178 (92.2)	51 (86.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	12 (2.8)	4 (2.1)	3 (5.1)	0.74 (0.24-2.34)	0.84 (0.22-3.29)	1.95 (0.53-7.13)	3.61 (0.83-15.7)
Missing	14 (3.3)	11 (5.7)	5 (8.5)				
≤ 1 glass/week	4 (0.9)	2 (1.1)	1 (1.7)	1.11 (0.20-6.14)	0.79 (0.08-7.90)	1.95 (0.21-17.8)	2.06 (0.17-24.4)
> 1 glass/week	5 (1.2)	0 (0.0)	2 (3.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	3.11 (0.59-16.5)	7.18 (1.09-47.3)
Missing	17 (4.0)	13 (6.7)	5 (8.5)				
				p trend = 0.14		p trend = 0.21	

During Pregnancy								
No	397 (93.9)	182 (94.3)	53 (89.8)	1.00	1.00	1.00	1.00	
Yes	12 (2.8)	0 (0.0)	1 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.62 (0.08-4.90)	0.87 (0.10-7.55)	
Missing	14 (3.3)	11 (5.7)	4 (6.8)					
≤ 1 glass/week	5 (1.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
> 1 glass/week	2 (0.4)	0 (0.0)	1 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	3.75 (0.33-42.0)	9.13 (0.61-135)	
Missing	19 (4.5)	0 (0.0)	5 (8.5)					
p trend = 0.88								
Other Beverage^b								
Preconception								
No	376 (88.9)	164 (85.0)	49 (83.0)	1.00	1.00	1.00	1.00	
Yes	33 (7.8)	18 (9.3)	5 (8.5)	1.25 (0.68-2.29)	1.48 (0.74-2.96)	1.16 (0.43-3.12)	2.16 (0.74-6.35)	
Missing	14 (3.3)	11 (5.7)	5 (8.5)					
≤ 1 glass/week	18 (4.2)	13 (6.7)	4 (6.8)	1.65 (0.79-3.46)	1.93 (0.84-4.44)	1.70 (0.55-5.24)	3.42 (0.81-14.3)	
> 1 glass/week	13 (3.1)	4 (2.1)	1 (1.7)	0.71 (0.23-2.20)	0.93 (0.28-3.16)	0.59 (0.07-4.61)	1.26 (0.14-11.5)	
Missing	14 (3.3)	12 (6.2)	5 (8.5)					
p trend = 0.91								
p trend = 0.89								
During Pregnancy								
No	385 (91.0)	174 (90.2)	54 (91.5)	1.00	1.00	1.00	1.00	
Yes	24 (5.7)	8 (4.1)	4 (6.8)	0.74 (0.36-1.67)	0.94 (0.37-2.40)	1.28 (0.43-3.85)	2.26 (0.68-7.51)	
Missing	14 (3.3)	11 (5.7)	1 (1.7)					
≤ 1 glass/week	13 (3.1)	4 (2.1)	3 (5.1)	0.68 (0.22-2.12)	0.99 (0.28-3.46)	1.78 (0.49-6.45)	3.41 (0.81-14.3)	
> 1 glass/week	7 (1.7)	3 (1.5)	1 (1.7)	0.95 (0.24-3.71)	1.19 (0.27-5.19)	1.10 (0.13-9.13)	1.26 (0.14-11.6)	
Missing	18 (4.2)	12 (6.2)	1 (1.7)					
p trend = 0.57								
p trend = 0.82								

a- Adjusted OR by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at child birth, maternal education, birth weight and infant ethnicity, three months before pregnancy, b-including wine consumption; ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; n=number of cases; Adj OR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; one glass=200ml.

Table 3- Maternal alcohol drinking preconception and/or during pregnancy risk according to offspring age strata, leukemia subtypes, and control mothers, Brazil, 1999-2007.

Maternal Drinking	Controls n (%)	ALL n (%)	AML n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	Adj ^a OR (95% CI)	OR (95% CI)	Adj ^a OR (95% CI)
Any beverages							
≤11 mo.							
No	158 (37.3)	47 (24.3)	18 (30.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	89 (21.1)	40 (20.7)	10 (17.0)	1.52 (0.92-2.48)	1.29 (0.73-2.27)	0.99 (0.44-2.23)	0.97 (0.38-2.46)
Missing	8 (1.9)	1 (0.5)	0 (0.0)				
12-23 mo.							
No	103 (24.4)	60 (31.1)	18 (30.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	61 (14.4)	43 (22.3)	13 (22.0)	1.21 (0.73-2.00)	1.07 (0.61-1.89)	1.22 (0.56-2.66)	1.49 (0.61-3.61)
Missing	4 (0.9)	2 (1.1)	0 (0.0)				
Preconception							
≤11 mo.							
No	158 (37.3)	45 (23.3)	18 (30.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	86 (20.3)	42 (21.7)	10 (17.0)	1.72 (1.04-2.82)	1.56 (0.88-2.79)	1.02 (0.45-2.31)	1.01 (0.39-2.61)
Missing	11 (2.7)	1 (0.5)	0 (0.0)				
12-23 mo.							
No	103 (24.4)	60 (31.1)	18 (30.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	61 (14.4)	43 (22.3)	13 (22.0)	1.21 (0.73-2.00)	1.01 (0.57-1.77)	1.22 (0.56-2.66)	1.39 (0.59-3.27)
Missing	4 (0.9)	1 (0.5)	0 (0.0)				
During Pregnancy							
≤11 mo.							
No	205 (48.4)	62 (32.1)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	50 (11.8)	26 (13.5)	4 (6.8)	1.72 (0.99-2.99)	1.49 (0.77-2.89)	0.68 (0.23-2.06)	0.96 (0.30-3.10)
Missing	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)				
12-23 mo.							
No	129 (30.5)	83 (43.0)	25 (42.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	37 (8.8)	21 (10.9)	6 (10.1)	0.89 (0.49-1.63)	0.83 (0.40-1.68)	0.84 (0.32-2.19)	1.09 (0.38-3.11)
Missing	2 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)				

a, Adjusted Odds Ratio by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at birth, maternal education, birth weight and infant skin color ; b, three months before pregnancy.; ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; n=number of cases; Adj OR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; mo.=months.

Table 4- Maternal smoking and alcohol consumption interaction risk for early age leukemia, Brazil, 1999-2007

Type of analysis / Smoke burden ^b	Alcohol Consumption ^a					
	ALL			AML		
	Abstainers	Occasional Drinkers	Frequent Drinkers	Abstainers	Occasional Drinkers	Frequent Drinkers
Periconception						
Crude OR (95%CI)						
Non-smokers	1.00	1.67 (0.96-2.94)	1.14 (0.63-2.06)	1.00	2.01 (0.92-4.36)	0.97 (0.38-2.47)
Moderate smokers	0.64 (0.36-1.12)	0.00	2.10 (0.77-5.78)	0.66 (0.28-1.58)	1.56 (0.18-7.60)	0.45 (0.04-4.67)
Heavy smokers	2.10 (0.69-6.44)	1.78 (0.51-6.17)	1.36 (0.20-9.53)	0.99 (0.19-8.34)	0.00	0.00
Adj ^c OR (95% CI)						
Non-smokers	1.00	0.88 (0.39-1.98)	1.22 (0.59-2.53)	1.00	2.01 (0.81-4.96)	1.19 (0.43-3.27)
Moderate smokers	1.00 (0.51-1.94)	0.00	1.46 (0.48-4.43)	0.64 (0.25-1.66)	1.28 (0.16-10.2)	0.38 (0.03-4.29)
Heavy smokers	1.89 (0.28-12.69)	0.97 (0.22-4.29)	1.41 (0.16-12.3)	1.16 (0.13-10.5)	0.00	0.00
During Pregnancy						
Crude OR (95%CI)						
Non-smokers	1.00	1.24 (0.63-2.45)	1.19 (0.62-2.30)	1.00	1.63 (0.67-3.98)	0.21 (0.03-1.58)
Moderate smokers	1.00 (0.55-1.81)	1.69 (0.44-6.45)	0.91 (0.23-3.55)	0.44 (0.13-1.48)	0.00	0.00
Heavy smokers	2.39 (0.47-12.0)	0.00	1.68 (0.09-32.3)	2.10 (0.21-20.6)	0.00	0.00
Adj ^c OR (95%CI)						
Non-smokers	1.00	0.88 (0.39-1.98)	1.22 (0.59-2.53)	1.00	1.78 (0.66-4.80)	0.22 (0.03-1.71)
Moderate smokers	1.00 (0.51-1.94)	1.26 (0.26-6.16)	1.00 (0.23-4.44)	0.35 (0.10-1.31)	0.00	0.00
Heavy smokers	1.89 (0.28-12.69)	0.00	1.61 (0.05-51.0)	3.47 (0.32-37.0)	0.00	0.00

a- OR, Odds ratios and 95% CI (confidence intervals) for leukemia according to categories of joint tobacco and alcohol exposures comparing models that assuming independence of effects and effect modification; level of pregnancy alcohol consumption: Abstainers (0 glass/week); Occasional drinkers (≤ 1 glass/week); frequent drinkers (≥ 1 glass/week); ^bLevel of pregnancy smoke consumption: non-smokers; moderate smokers (1- ≤ 20 cigarettes/day); heavy smokers (≥ 20 cigarettes/day); ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; n=number of cases; Adj OR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; c, Adjusted OR by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at birth, maternal education, birth weight and infant skin color.

6.3- 3º Artigo da tese:

A Case-control study of early age leukemia and parental occupational exposures during pregnancy in Brazil

Jeniffer Dantas Ferreira¹, Arnaldo César Couto², Maria S. Pombo-de-Oliveira³, Sergio Koifman^{**1}, Rosalina Jorge Koifman^{*1}, *Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia*⁴.

¹ Environment and Public Health Post-graduation Program, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rua Leopoldo Bulhões 1480, Rio de Janeiro, Brazil, 21041-210

²State University Center of the West Zone (UEZO), Rua Manuel Caldeira de Alvarenga, 1.203, Rio de Janeiro,RJ, Brazil, 23070-200

³Pediatric Hematology-Oncology Program, Research Center, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rua André Cavalcanti 37, Rio de Janeiro,RJ, Brazil, 20231-050.

⁴Members of the Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia are listed in the appendix.

***Corresponding author:** Rosalina Jorge Koifman, MD. Environment and Public Health Post-graduation Program, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rua Leopoldo Bulhões 1480, Rio de Janeiro, Brazil, 21041-210, Phone: +55 21 2598-2634, e-mail: rosalina.koifman@hotmail.com

****** *inmemorium*

Abstract

Aims: To test whether the parental occupation during preconception and pregnancy would be associated with early age leukemia (EAL) in offspring. **Methods:** Dataset were analyzed from a case-control study carried out in Brazil during 1999-2007. Cases were children who were enrolled in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia in which maternal interviews were obtained using a standardized questionnaire. The control group consisted of children without malignancies, age frequency matched and paired by area of residence with the cases. Analyses include 252 cases (116 infant leukemia, ≤ 11 months-old at the diagnosis) and 423 controls. Unconditional logistic regression was performed, and adjusted odds ratios (adj. OR) on the association between alcohol consumption and EAL were ascertained. **Results:** The main findings of this study were an increased risk of leukemia related to paternal occupational to sales jobs, machinery mechanics and fitters, agriculture. For maternal occupational, there were increased risks of leukemia for administrative professionals and textile, garment and related trades. A protective effect was found when the mother's work was related to domestic work, as housewife or housekeeper. **Conclusion:** This study supports the hypothesis that some paternal occupational exposures during preconception, pregnancy and lactation periods may be associated with EAL.

Keywords: Cancer, leukemia, child, pregnancy, maternal exposure, paternal exposure, parental occupation.

Introduction

The first study concerned about the role of paternal occupation in the risk of malignant diseases in offspring has been described from the 70s (Fabia and Thuy 1974). Some work environments would be considered unhealthy for the employees, and they could carry some substances into the home through dirty clothes, shoes and skin. In general, the studies were focused in paternal exposure, and the main exposures associated with childhood leukemia were solvents, paints, pesticides, and employment in motor vehicle-related occupations based on case-control studies (Lowengart *et al.*, 1987, Buckley *et al.*, 1989, Shu *et al.*, 1999, Feychting *et al.* 2001, McKinney *et al.*, 2003).

A mechanism for childhood carcinogenesis is unclear, it could be the case that the child is exposed transplacentally through exposure of the mother, or a genetic alteration in the father's sperm before conception could affect cancer susceptibility in the child, and postnatal exposure at home (Mc Kinney *et al.*, 2003). These hypothesis are supported by experimental studies due to exposure to exogenous agents before conception which can alter the germ cells, this may increase the risk of cancer in the offspring (Feychting *et al.*, 2001).

A study in Spain, between 1991 and 1993 show that construction sites and agricultural jobs amounted for the largest number of employees exposed to smoking, solar radiation, silica and wood dust (González and Agudo, 1999). A Swedish study reveals an increased risk of leukemia related to paternal occupational exposure to textile dust, wood work, sales and an increased risk of nervous system tumors related to

fathers that worked with pesticides and solvents (Feychting *et al.* 2001). McKinney *et al.* (2003), observed an association between childhood leukaemia and paternal occupational exposure to exhaust fumes, and/or inhaled particulate hydrocarbons at periconception.

The aim of this study is to verify the association between parental occupation and related exposures with the risk of acute leukemias in children less than 2 years (EAL).

Materials and Methods

Study Population and Design

This investigation is part of a multicenter study named “Multi-institutional Study of Infant Leukemia: Contribution of Immunomolecular Markers in Distinguishing Different Etiopathogenic Factors”, it is a hospital-based case-control study to investigate the pathogenic mechanisms of early age leukemia (EAL) in Brazil (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2006).

The data was obtained by in person interviews carried out between 1999-2007 with mothers of newly diagnosed patients recruited from the Brazilian National Health System centers providing care for pediatric patients diagnosed with cancer, and from general hospitals.

Case and controls ascertainment

For the cases to be eligible, children less than 24 months old had to have been diagnosed for acute myeloid leukemia (ALL= 193) or acute myeloid leukemia (AML=59) and confirmed by morphology, immunophenotype and standard cytogenetic-molecular methods.

The controls (n= 423) selected were patients at the Brazilian National Health System centers where cases were recruited, or patients of general hospitals in the same cities. They were matched by frequency with leukemia cases according to age (0–23 months) and enrolled from the same geographic areas where cases were diagnosed.

Controls included children with infectious and parasitic diseases (n= 124, 29.4%); non-malignant hematological diseases (n= 83, 19.6%); asthma and bronchitis (n= 43, 10.2%); hemangioma (n= 40, 9.4%); severe diarrhea (n= 39, 9.2%); cardiovascular diseases (n= 25, 5.8%); and other non-malignant conditions (n= 69, 16.4%).

Exclusion Criteria

Children with congenital syndromes, myelodysplasia, adoptive parents, or unknown biological mothers, were not eligible to be cases or controls, and controls with a malignant tumor diagnosis were excluded. Participation of invited cases and controls in the study was, respectively, 96% and 95% (Pombo-de-Oliveira and Koifman, 2006).

Data Collection

The study was specifically designed to collect information on environmental exposures potentially associated with leukemogenesis. Data collection was gathered through face-to-face interview with case and control mothers, after signing a written informed consent. A standardized questionnaire containing the family's socioeconomic background, parents' occupational history, health antecedents, medicines used, as well as lifestyle patterns, was used.

Mothers were asked to list all occupations in which they had been involved, especially during a one year period prior to the conception of the indexed child. As well as, the fathers occupations. Each of the occupations was classified according to the International Standard Classification of Occupations version 1988 (ISCO-88) of the International Labour Organization.

A major group classification of the occupation was performed. For occupations where an association with the outcome is indicated, results are shown also for subdivisions of the occupation into finer categories using a three digit classification or the unit group titles.

Variables of maternal and paternal occupational exposure consider the data provided by the mother, from the first to the current work activities, job / role, weekly workload period and specific activities they did in the job. In addition, the parental contact to potentially carcinogenic substances like metal dust, sand, cement, concrete, wood, coal, soot, cotton, wool and / or fiberglass, lubricants, cutting fluids, mineral, fuels, solvents and degreasers, aguarraz, trichlorethylene, perchlorethylene, creosote,

asphalt or bitumen, hydrochloric acid or sulfuric acid, adhesives, and/or paints at least once 3 months before and during pregnancy and breastfeeding.

Ethical Aspects

This study used primary data obtained from the project “Multi-institutional Study of Infant Leukemia: Contribution of Immunomolecular Markers in Distinguishing Different Etiopathogenic Factors”. This investigation was approved by the Research Ethics Committee of the Brazilian National Cancer Institute, No. 005/06 and by the Research Ethics Committee of Oswald Cruz Foundation, No. 864794/14.

Statistical Analysis

Unconditional logistic regression was performed to estimate the magnitude of association between parental occupation and EAL, being the respective odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals ascertained after adjustment for selected variables (maternal age and education, oral contraceptives use during pregnancy, birth weight and skin color) previously identified as confounders in the studied dataset (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2006).

Results

This study was performed in a sample of 675 participants, including 252 cases (193 ALL and 59 AML) and 423 controls. There were 255 (60.3%) controls, 88 (45.6%) ALL and 28 (47.5%) AML aged <12 months. However, aged between 12-23 months was observed in 168 (39.7%), 105 (54.4%) and 31 (52.5%), control, ALL and AML,

respectively. The main socio-demographic characteristics are shown in table 1. In this sense, proportions of white, older and more educated mothers among cases were significantly higher than in controls.

An indication of an increment risk of childhood leukemia is seen among children, whose fathers were technicians, a group 3 occupation according ISCO 88. For preconceptional period were observed adj. OR= 3.63 (95% CI 1.21-10.88) for AML and adj. OR= 2.00 (95% CI 0.80-4.86) for ALL. The minor group, 341 (finance and sales associate professionals), present an increased risk for both ALL and AML, adj. OR= 4.53 (95% CI 1.03-20.0) and adj. OR= 6.53 (95% CI 0.88-48.6), respectively.

In the first and second trimester of pregnancy, the major group 3 occupation were associated with elevated risk of AML, adj. OR= 3.66 (95% CI 1.22-11.01) and adj. OR= 3.64 (95% CI 1.21-10.95), in this order. For minor group 341, the AML estimated risks were found adj. OR= 6.68 (95% CI 0.91-49.04) for the first trimester and adj. OR= 2.70 (95% CI 0.24-30.48) for the second one. For ALL, the estimates of group 341 were shown adj. OR= 2.94 (95% CI 0.64-13.55) for the first and adj. OR= 2.95 (95% CI 0.64-13.58) for the second trimester.

The magnitude of association between group 3 occupations in the third trimester and AML was shown as adj. OR= 3.66 (95% CI 1.21-11.03). For ALL, adj. OR= 1.76 (95% CI 0.72-4.30).

A statistically significant association was observed between the group 3 occupations and AML, adj. OR= 3.47 (95% CI 1.08-11.16) in the first year of the child's life, including lactation period. For ALL, the adj. OR= 2.03 (95% CI 0.81-5.08). It was also observed elevated risk estimates for the minor group 341 for both ALL and AML,

adj. OR= 8.70 (95% CI 0.94-80.74) and adj. OR= 12.48 (95% CI 0.42-371), respectively.

For children aged between 12-23 months, fathers whose jobs involve crafts or construction (group 7) showed increased risk of ALL, adj. OR= 2.10 (95% CI 1.04-4.24). Especially for the minor group 723 (machinery mechanics and fitters), adj. OR= 7.70 (95% CI 0.75-78.63). The occupational category group 3 revealed adj. OR= 2.16 (95% CI 0.54-8.69) for ALL and adj. OR= 3.61 (95% CI 0.66-19.80) for AML.

Within the occupational category “technical and commercial sales representatives” fathers’ occupation unit 3415 4-32.20 were associated with a 4-fold risk of AML and a 8-fold risk of ALL for preconceptional period and during pregnancy.

The odds of ALL and AML were increased with exposure during all time periods for paternal agricultural occupation, but no statistically significant associations were ascertained. As well as, the odds for AML for agriculture related maternal occupation.

Analyses stratified by gestational period presents a elevated risk estimates in the three trimesters of pregnancy, preconceptional period and first year of child between maternal occupation major group 3 and EAL. For AML were observed adj. OR= 4.62 (95% CI 1.37-15.60) for preconceptional period; adj. OR= 5.53 (95% CI 1.70-18.02) for 1° trimester; adj. OR= 5.01 (95% CI 1.40-17.85) for 2° trimester; adj. OR= 5.81 (95% CI 1.57-21.50) for 3° trimester and adj. OR= 4.03 (95% CI 1.06-15.26) for the first year. For ALL, adj. OR= 2.73 (95% CI 1.07-6.95) for preconceptional; adj. OR= 3.19 (95% CI 1.28-7.92) for 1° trimester; adj. OR= 3.65 (95% CI 1.46-9.13) for 2° trimester; adj. OR= 3.22 (95% CI 1.22-8.53) for 3° trimester and adj. OR= 2.98 (95% CI 1.18-7.49) for the first year.

For AML, a high risks estimative were found for children whose mothers worked with "administrative activities" (minor group 343). For distinct periods, preconceptional adj. OR= 15.27 (95% CI 1.23-189.3); first trimester, adj. OR= 15.54 (95% CI 1.25-193-09); second trimester, adj. OR= 16.07 (95% CI 1.29-198.74); for third trimester, adj. OR= 17.36 (95% CI 1.39-217) and, for the first year, adj. OR= 7.28 (95% CI 0.90-59.08).

Having a mother who works with textile, garment and related trades was associated with more than a 3-fold increased risk for AML in preconceptional, first and second periods of pregnancy.

The results of this study present a protective effect when maternal occupation was related to housework. For mothers that reported being housewife during all time periods, especially for AML in the second trimester, adj. OR= 0.50 (95% CI 0.27-0.95). Moreover, it was observed reduction in risk for ALL for mothers that worked as domestic helpers and cleaners during pregnancy, OR= 0.52 (95% CI 0.27-0.98) for first trimester, OR= 0.49 (95% CI 0.25-0.96) for second trimester and OR= 0.42 (95% CI 0.21-0.85) for third trimester.

Discussion

The main findings of this study were an increased risk of leukemia related to paternal occupational to sales jobs, machinery mechanics and fitters and agriculture. For maternal occupational, there were increased risks of leukemia for administrative professionals and textile, garment and related trades. A protective effect was found when the mother's work was related to domestic work, as housewife or housekeeper.

Both mothers and fathers showed association between EAL and the technical work, mainly engaged in sales or administrative tasks. Kinlen (1997) published his results of studies conducted in Scotland and suggested that people high-contact paternal occupations would be associated with the development of leukemia in children when the category of low or average exposure was compared to high and very high exposures.

Clearly some occupations involve contacts with more individuals than others, such as salesperson (Feytching *et al.*, 2001; Pearce *et al.*, 2004), teachers (Kinlen *et al.*, 2002; Pearce *et al.*, 2004), public transport drivers (Kinlen, 1997; Kinlen *et al.*, 2002; McKinney *et al.*, 2003; Keegan *et al.*, 2012), police (Pearce *et al.*, 2004), construction professionals (Kinlen, 1997; Kinlen *et al.*, 2002). In addition, the paternal administrative tasks were pointed as a positive association with childhood leukemia for Feytching *et al.* (2001), RR= 2.72 (95% CI 1.12-6.64) and maternal occupation on personal service industries revealed OR= 2.7, p=0.04 (Lowengart *et al.*, 1987).

So, these studies confirm the hypothesis in population-mixing situations, children whose fathers have contact with many different people at work have a higher incidence of leukemia than the children of men with lower levels of work contacts. Although, other studies did not reported association between social contact paternal occupations and childhood leukemia (Fear *et al.*, 1999; Fear *et al.*, 2005).

Labor activities performed by mechanics are related to cancer onset in various organs such as oral cavity, oropharynx and larynx, nasal cavity and paranasal sinuses, lung, mesothelioma, stomach, esophagus and liver (NCI, 2012). This is due to the various chemicals they are exposed to (petroleum, solvents, oils, exhaust fumes).

The agricultural work by fathers and mothers have been associated with leukemia in their children in some previous studies (Shu *et al.*, 1988; Buckley *et al.*, 1988; Meinert *et al.*, 2000; Monge *et al.*, 2007; Wigle *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2014). A metanalysis study conducted by multi-institutional group (Bailey *et al.*, 2014), showed for maternal exposure during pregnancy OR= 1.94 (95% CI 1.19-3.18) for AML and OR= 1.01 (95% CI 0.78-1.30), for ALL. Paternal exposure in preconception period, revealed OR= 0.91 (95% CI 0.66-1.24) and OR= 1.20 (95% CI 1.06-1.38) for AML and ALL, respectively. Fear *et al.* (1998) and Glass *et al.* (2012) found null association with childhood leukemia.

A couple of studies have linked paternal textile work to childhood leukemia (Lowengart *et al.*, 1987; Magnani *et al.*, 1990; Feytching *et al.*, 2001). In the present study an increased risk was indicated for AML when the maternal exposure was in preconceptional period adj. OR= 4.84 (95% CI 1.09-21.56). For the first and second trimester, the magnitude of association was preserved statistically significant. The carcinogenic mechanism of tissue fibers is unknown. Infant-Rivard *et al.*, in 1991, suggests that maternal employment in textiles may be associated with increased risk of leukemia in children, OR= 4.2 (95% CI 1.0-17.7). Believed to be attributed to the dyes used in synthetic fibers, though the cotton dust seemed to have a protective effect against cancer. Their conclusion is that, the fetus exposed through the placental circulation, may react differently from the adult worker (Infant-Rivard *et al.*, 1991).

No data was found in the international literature on household tasks and reduced risk of EAL. However, we know that the concentrations of carcinogens in general are higher than in workplaces outside them (INCA, 2012). Even, mothers and

fathers can still carry remnants residence to product and / or substances through clothes, shoes or skin (Deziel *et al.*, 2015), it seems that the home environment has a protective effect during pregnancy, which was not observed in our results after birth.

Regarding the Brazilian health policies, Corrêa (2008) affirms that epidemiological surveillance on exposure to carcinogens is absent. Thus, prevention in health and safety at work and investments on systematic information should be a priority. In the field of occupational health, we can mention the expansion of the Pact for Health (Ordinance MS/MC No. 399 of February 22, 2006) with the inclusion, in 2008, of workers' health as an indicator to be evaluated annually and priority prevention and control to be developed. However, in practice, the two political lines (cancer and occupational health) have not dialogue.

Preventive actions in the worker's health should be directed to the determinants of the disease process related to work in both the environment and work processes harmful to health. In 2002, it created the National Network for Whole Health Care Workers (RENAST; MS Ordinance No. 1679/2002), but it was not yet possible to prohibit the use, sale and exploitation of some carcinogens, such as asbestos, already well established in international literature associated with lung cancer (INCA, 2012).

Especially for paternal occupations, studies with preconception exposures are based on the assumption that some environmental factors can act on the germ cells of the father before conception and cause DNA alterations, which can affect cancer susceptibility in their children, hence the importance of salubrious workplaces. For women of childbearing age, various substances can be absorbed by the respiratory,

digestive tract and skin, reaching the fetus via the placenta. Thus, intrauterine exposure would be considered the first “hit” to the child's genetic mutations.

Our research presents some limitations. As a hospital-based case-control study, selection and information biases introduction cannot be disregarded. Nevertheless, in order to reduce these potential flaws, cases and controls were recruited in the same cities, or in the same hospitals whenever possible. Additionally, the selected controls were children of similar age as cases and presenting severe diseases aiming to restrain a possible recall bias. Furthermore, controls were diagnosed with several diseases, for the purpose of minimize the potential selection bias (Pombo-de-Oliveira *et al.*, 2006). Some estimates of associations with exposure during pregnancy were imprecise due to small numbers of occupations after stratification in minor groups or unit professional classification.

On the other hand, this investigation has some strength, being relatively large given that the outcomes are rare. To our knowledge, this is so far the first investigation exploring the association between parental exposures at workplaces before, during and after pregnancy and childhood leukemia in South-America population. Secondly, the study focused on a specific age range (children 0-23 months), which has been scarcely addressed according to leukemia risk factors. Standardized procedures to obtain epidemiological data were employed, and participant enrollment was carried out following strict guidelines to minimize potential selection and recall biases.

Conclusion

This study supports the hypothesis that some paternal occupational exposures during preconception, pregnancy and lactation periods may be associated with EAL. However, the consistency of our findings with those of similar studies performed in different populations encourages recommendations for women of reproductive age to minimize their exposure to chemical substances, among which pesticides, textile paints and dust at periconceptual periods.

Reference

Bailey HD, Fritschi L, Infante-Rivard C, Glass DC, Miligi L, Dockerty JD, Lightfoot T, Clavel J, Roman E, Spector LG, Kaatsch P, Metayer C, Magnani C, Milne E, Polychronopoulou S, Simpson J, Rudant J, Sidi V, Rondelli R, Orsi L, Kang AY, Petridou E, Schüz J. Parental occupational pesticide exposure and the risk of childhood leukemia in the offspring: findings from the childhood leukemia international consortium. *Int J Cancer*. 2014 Nov 1;135(9):2157-72.

Buckley JD, Robison LL, Swotinsky R, Garabrant DH, LeBeau M, Manchester P, Nesbit ME, Odom L, Peters JM, Woods WG, et al. Occupational exposures of parents of children with acute nonlymphocytic leukemia: a report from the Childrens Cancer Study Group. *Cancer Res*. 1989 Jul 15;49(14):4030–4037.

Correa MJM. A construção social do silêncio epidemiológico do benzenismo: uma história negada [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2008.

Deziel NC, Colt JS, Kent EE, et al. Associations between self-reported pest treatments and pesticide concentrations in carpet dust. *Environmental Health*. 2015;14:27.

Fabia J, Thuy TD. Occupation of father at time of birth of children dying of malignant diseases. *Br J Prev Soc Med*. 1974 May;28(2):98-100.

Fear NT, Roman E, Reeves G, Pannett B. Childhood cancer and paternal employment in agriculture: the role of pesticides. *British Journal of Cancer*. 1998;77(5):825-829.

Fear NT, Roman E, Reeves G, Pannett B. Are the children of fathers whose jobs involve contact with many people at an increased risk of leukaemia? *Occup Environ Med*. 1999 Jul;56(7):438–442.

Fear NT, Simpson J, Roman E; United Kingdom Childhood Cancer Study Investigators. Childhood cancer and social contact: the role of paternal occupation (United Kingdom). *Cancer Causes Control*. 2005 Nov;16(9):1091-7.

Feychting M, Plato N, Nise G, Ahlbom A. Paternal occupational exposures and childhood cancer. *Environ Health Perspect*. 2001 Feb;109(2):193-6.

Glass DC, Reid A, Bailey HD, Milne E, Fritschi L. Risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia following parental occupational exposure to pesticides. *Occup Environ Med*. 2012 Nov;69(11):846-9.

González CA, Agudo A. Occupational cancer in Spain. *Environmental Health Perspectives*. 1999;107(Suppl 2):273-277.

Infante-Rivard C, Mur P, Armstrong B, Alvarez-Dardet C, Bolumar F. Acute lymphoblastic leukaemia among Spanish children and mothers' occupation: a case-control study. *Journal of Epidemiology and Community Health*. 1991;45(1):11-15.

Keegan TJ, Bunch KJ, Vincent TJ, King JC, O'Neill KA, Kendall GM, MacCarthy A, Fear NT, Murphy MF. Case-control study of paternal occupation and childhood leukaemia in Great Britain, 1962-2006. *Br J Cancer*. 2012 Oct 23;107(9):1652-9.

Kinlen LJ. High-contact paternal occupations, infection and childhood leukaemia: five studies of unusual population-mixing of adults. *Br J Cancer*. 1997;76(12):1539–1545.

Kinlen L, Jiang J, Hemminki K. A case-control study of childhood leukaemia and paternal occupational contact level in rural Sweden. *Br J Cancer*. 2002 Mar 4;86(5):732-7.

Kumar A, Vashist M, Rathee R. Maternal factors and risk of childhood leukemia. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(2):781-4.

Lowengart RA, Peters JM, Cicioni C, Buckley J, Bernstein L, Preston-Martin S, Rappaport E. Childhood leukemia and parents' occupational and home exposures. J Natl Cancer Inst. 1987 Jul;79(1):39-46.

Magnani C, Pastore G, Luzzatto L, Terracini B. Parental occupation and other environmental factors in the etiology of leukemias and non-Hodgkin's lymphomas in childhood: a case-control study. Tumori 1990;76:413-419.

McKinney PA, Fear NT, Stockton D, on behalf of the United Kingdom Childhood Cancer Study Investigators. Occup Environ Med 2003;60:901-909.

Meinert R, Schüz J, Kaletsch U, Kaatsch P, Michaelis J. Leukemia and non-Hodgkin's lymphoma in childhood and exposure to pesticides: results of a register-based case-control study in Germany. Am J Epidemiol. 2000 Apr 1;151(7):639-46; discussion 647-50.

Monge P, Wesseling C, Guardado J, Lundberg I, Ahlbom A, Cantor KP, Weiderpass E, Partanen T. Parental occupational exposure to pesticides and the risk of childhood leukemia in Costa Rica. Scand J Work Environ Health. 2007 Aug;33(4):293-303.

National Cancer Institute José de Alencar Gomes da Silva - INCA (Brazil). General coordination of Strategic Actions. Coordinating of Prevention and Surveillance. Cancer Surveillance area related to labor and environment. Guidelines for the surveillance of work-related cancer. Rio de Janeiro: INCA, 2012, 187 p. [accessed May 20, 2015].

Available in:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/diretrizes_vigilancia_cancer_trabalho.pdf

Pearce MS, Cotterill SJ, Parker L. Fathers' occupational contacts and risk of childhood leukemia and non-hodgkin lymphoma. *Epidemiology*. 2004 May;15(3):352-6.

Pombo-de-Oliveira MS, Koifman S. Infant Acute Leukemia and maternal exposures during pregnancy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006; 15(12):2336-2341.

Shu XO, Gao YT, Brinton LA, Linet MS, Tu JT, Zheng W, Fraumeni JF Jr. A population-based case-control study of childhood leukemia in Shanghai. *Cancer*. 1988 Aug 1;62(3):635-44.

Shu XO, Stewart P, Wen WQ, Han D, Potter JD, Buckley JD, Heineman E, Robison LL. Parental Occupational Exposure to Hydrocarbons and Risk of Acute Lymphocytic in Offspring. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 1999; 8:783-791.

Wigle DT, Turner MC, Krewski D. A systematic review and meta-analysis of childhood leukemia and parental occupational pesticide exposure. *Environ Health Perspect.* 2009 Oct;117(10):1505-13.

Table 1 – Distribution of selected maternal and child demography of early age leukemia and controls, Brazil, 1999-2007 (*).

	Cases ** N (%)	Controls N (%)	p-value
Age			
≤11mo.	116 (46.0)	255 (60.2)	< 0.01
12-24mo.	136 (53.9)	168 (39.8)	
Gender			
Males	130 (51.6)	226 (53,4)	0.643
Females	122 (48.4)	197 (46,6)	
Birth Weight			
< 4,000g	234 (92.8)	393 (93.0)	0.470
> 4,000g	16 (6.2)	21 (5.0)	
Ethnicity			
Whites	170 (67.5)	153 (36.2)	< 0.01
Non-whites	77 (30.5)	256 (60.5)	
Place of birth			
Northeast	52 (20.6)	101 (24.1)	0.552
Midwest	18 (7.1)	31 (7.3)	
Southeast	155 (61.5)	237 (56.0)	
South	27 (10.7)	53 (12.5)	
Maternal age^a			
<18 years	8 (3.2)	60 (14.1)	< 0.01
18-24 years	91 (36.1)	182 (42.9)	
25-34 years	117 (46.4)	145 (34.2)	
>35 years	36 (14.3)	36 (8.8)	
Maternal Education			
<8 years	81 (32.1)	206 (48.6)	< 0.01
>8 years	146 (57.9)	209 (49.4)	
Total	252 (100)	423 (100)	-

Abbreviations: a= maternal age at child delivery; N= number of cases; mo.= months.
 (*) data presented in Ferreira J.D. *et al.*, 2012 2 (151):1-18 [Ref.12]; (**) include acute lymphoblastic leukemia, n= 193 and acute myeloid leukemia, n= 59.

Table 2 – Leukemia risk related to paternal occupation before and during pregnancy.

Paternal ISCO Code	Controls (n=423), n (%)	ALL (n=193), n (%)	AML (n=59), n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	OR Ajus ^a (95% CI)	OR (95% CI)	OR Ajus ^a (95% CI)
Preconception ^b							
0110							
No	321 (75.9)	155 (80.3)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	6 (3.1)	3 (5.1)	1.13 (0.41-3.11)	1.02 (0.33-3.07)	1.99 (0.53-7.41)	1.98 (0.49-7.93)
1							
No	327 (77.3)	157 (81.3)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.67 (0.44-6.29)	1.23 (0.30-5.10)	2.90 (0.55-15.43)	3.28 (0.56-19.09)
2							
No	322 (76.1)	153 (79.3)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	10 (2.4)	8 (4.1)	1 (1.7)	1.68 (0.65-4.35)	1.34 (0.47-3.79)	0.70 (0.09-5.60)	0.53 (0.06-4.83)
3							
No	320 (75.7)	147 (76.2)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	12 (2.8)	14 (7.2)	7 (11.9)	2.54 (1.15-5.63)	2.00 (0.80-4.86)	4.67 (1.74-12.54)	3.63 (1.21-10.88)
341							
No	329 (77.8)	154 (79.8)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	3 (0.7)	7 (3.6)	5 (8.5)	4.98 (1.27-19.54)	4.53 (1.03-20.0)	4.87 (0.79-29.97)	6.53 (0.88-48.6)
341543220							
No	330 (78.3)	155 (80.3)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.2)	6 (3.1)	1 (1.7)	12.77 (1.53-107.0)	8.79 (0.94-82.19)	7.17 (0.44-116.2)	4.30 (0.26-72.1)
343							
No	329 (77.8)	156 (80.8)	47 (79.7)	1.00	1.00		
Yes	3 (0.7)	5 (2.6)	0 (0.0)	3.52 (0.83-14.90)	1.98 (0.38-10.33)	0.00	0.00
4							
No	320 (75.7)	156 (80.8)	47 (79.7)	1.00	1.00		
Yes	12 (2.8)	5 (2.6)	0 (0.0)	0.86 (0.30-2.47)	0.98 (0.30-3.20)	0.00	0.00
5							
No	285 (67.4)	145 (75.1)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	47 (11.1)	16 (8.3)	4 (6.8)	0.67 (0.37-1.22)	0.66 (0.35-1.27)	0.56 (0.19-1.65)	0.56 (0.19-1.70)
522045130							
No	310 (73.3)	151 (78.2)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00

Yes 6	22 (5.2)	10 (5.2)	4 (6.8)	0.93 (0.43-2.02)	0.78 (0.34-1.81)	1.31 (0.43-3.99)	1.20 (0.37-3.88)
No	304 (71.8)	144 (74.6)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	28 (6.7)	17 (8.8)	5 (8.5)	1.28 (0.68-2.42)	1.50 (0.73-3.09)	1.29 (0.47-3.53)	1.20 (0.40-3.62)
611161220							
No	310 (73.3)	150 (77.7)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	22 (5.2)	11 (5.7)	5 (8.5)	1.03 (0.49-2.19)	1.25 (0.54-2.91)	1.68 (0.60-4.67)	1.76 (0.56-5.55)
7							
No	214 (50.6)	112 (58.0)	34 (57.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	118 (27.9)	49 (25.4)	13 (22.0)	0.79 (0.53-1.19)	0.95 (0.61-1.48)	0.69 (0.35-1.37)	0.88 (0.42-1.83)
712295120							
No	284 (67.2)	148 (76.7)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	48 (11.3)	13 (6.7)	6 (10.2)	0.52 (0.27-0.99)	0.71 (0.35-1.42)	0.87 (0.35-2.15)	1.21 (0.45-3.24)
714							
No	323 (76.4)	152 (78.8)	47 (79.7)	1.00	1.00		
Yes	9 (2.1)	9 (4.6)	0 (0.0)	2.13 (0.83-5.46)	2.06 (0.78-5.45)	0.00	0.00
723							
No	322 (76.1)	156 (80.8)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	10 (2.4)	5 (2.6)	1 (1.7)	1.03 (0.35-3.07)	0.99 (0.31-3.09)	0.70 (0.08-5.60)	0.43 (0.04-4.10)
742							
No	325 (76.8)	158 (81.9)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	3 (1.6)	1 (1.7)	0.88 (0.23-3.46)	0.69 (0.15-3.07)	1.01 (0.12-8.39)	1.09 (0.12-9.62)
8							
No	288 (68.1)	141 (73.0)	39 (66.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	44 (10.4)	20 (10.4)	8 (13.6)	0.93 (0.53-1.64)	0.73 (0.38-1.37)	1.34 (0.59-3.06)	0.99 (0.41-2.42)
832							
No	307 (72.6)	150 (77.7)	44 (75.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	25 (5.9)	11 (5.7)	3 (5.1)	0.90 (0.43-1.88)	0.69 (0.30-1.57)	0.84 (0.24-2.89)	0.51 (0.13-1.94)
9							
No	287 (67.8)	139 (72.0)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.7)	22 (11.4)	4 (6.8)	1.01 (0.58-1.75)	1.06 (0.58-1.94)	0.59 (0.20-1.73)	0.64 (0.21-1.97)
Unexposed ^c	91 (21.5)	32(16.6)	12 (20.3)				
1 st Trimester							
0110							

No	324 (76.6)	160 (82.9)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	6 (3.1)	3 (5.1)	1.11 (0.40-3.04)	0.98 (0.32-3.02)	1.96 (0.53-7.31)	2.02 (0.50-8.12)
1							
No	330 (78.0)	162 (83.9)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.63 (0.43-6.15)	1.21 (0.29-5.02)	2.87 (0.54-15.22)	3.29 (0.56-19.21)
2							
No	324 (76.6)	158 (79.3)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	8 (4.1)	1 (1.7)	1.49 (0.59- 3.78)	1.28 (0.46-3.57)	0.63 (0.08-4.97)	0.52 (0.06-4.27)
3							
No	323 (76.4)	153 (79.3)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	12 (2.8)	13 (6.7)	7 (11.9)	2.29 (1.02-5.13)	1.67 (0.67-4.16)	4.60 (1.71-12.33)	3.66 (1.22-11.01)
341							
No	332 (78.5)	160 (82.9)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	3 (0.7)	6 (3.1)	2 (3.4)	4.15 (1.03-16.81)	2.94 (0.64-13.55)	4.81 (0.78-29.57)	6.68 (0.91-49.04)
341543220							
No	334 (79.0)	160 (82.9)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.2)	6 (3.1)	1 (1.7)	12.53 (1.50-104.9)	8.38 (0.90-77.96)	7.11 (0.44-115)	4.57 (0.27-76.66)
343							
No	332 (78.5)	161 (83.4)	48 (81.4)	1.00	1.00		
Yes	3 (0.7)	5 (2.6)	0 (0.0)	3.44 (0.81-14.56)	1.90 (0.36-10.01)	0.00	0.00
4							
No	321 (75.9)	161 (83.4)	48 (81.4)	1.00	1.00		
Yes	14 (3.3)	5 (2.6)	0 (0.0)	0.71 (0.25-2.01)	0.90 (0.28-2.86)	0.00	0.00
5							
No	290 (68.6)	150 (77.7)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.6)	16 (8.3)	4 (6.8)	0.69 (0.38-1.26)	0.69 (0.36-1.33)	0.59 (0.20-1.71)	0.58 (0.19-1.73)
522045130							
No	315 (74.5)	155 (80.3)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	20 (4.7)	10 (5.2)	4 (6.8)	1.02 (0.46-2.22)	0.81 (0.33-1.97)	1.43 (0.47-4.38)	1.40 (0.43-4.54)
6							
No	307 (72.5)	149 (77.2)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	28 (6.7)	17 (8.8)	5 (8.5)	1.25 (0.66-2.36)	1.31 (0.64-2.68)	1.28 (0.47-3.48)	1.18 (0.40-3.52)
611161220							
No	313 (74.0)	155 (80.3)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	22 (5.2)	11 (5.7)	5 (8.5)	1.01 (0.48-2.14)	1.20 (0.48-2.97)	1.65 (0.60-4.60)	2.27 (0.72-7.16)
7							

No	215 (50.9)	115 (59.6)	35 (59.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	120 (28.7)	51 (26.4)	13 (22.0)	0.80 (0.53-1.18)	0.98 (0.63-1.52)	0.67 (0.34-1.31)	0.84 (0.41-1.73)
712295120							
No	286 (67.6)	151 (78.2)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	49 (11.6)	15 (7.8)	6 (10.2)	0.58 (0.32-1.07)	1.03 (0.52-2.03)	0.83 (0.34-2.07)	1.32 (0.47-3.75)
714							
No	326 (77.1)	158 (81.9)	48 (81.4)	1.00	1.00		
Yes	9 (2.1)	8 (4.1)	0 (0.0)	1.83 (0.69-4.84)	1.83 (0.63-5.34)	0.00	0.00
723							
No	323 (76.3)	162 (83.9)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	12 (2.8)	4 (2.1)	2 (3.4)	0.66 (0.21-2.09)	0.84 (0.25-2.87)	1.17 (0.25-5.40)	0.53 (0.06-4.67)
742							
No	332 (78.5)	165 (85.5)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	3 (0.7)	1 (0.5)	1 (1.7)	0.67 (0.07-6.50)	0.74 (0.13-5.43)	2.36 (0.24-23.11)	3.17 (0.29-35.00)
8							
No	290 (68.6)	142 (73.6)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.6)	24 (12.4)	7 (11.9)	1.09 (0.64-1.86)	0.85 (0.46-1.56)	0.91 (0.38-2.15)	0.79 (0.31-2.01)
832							
No	309 (73.0)	153 (79.3)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	26 (6.2)	13 (6.7)	3 (5.1)	1.01 (0.51-2.02)	0.70 (0.31-1.57)	0.79 (0.23-2.73)	0.37 (0.08-1.73)
9							
No	291 (68.8)	144 (74.6)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	44 (10.4)	22 (11.4)	6 (10.2)	1.01 (0.58-1.75)	1.05 (0.57-1.93)	0.95 (0.38-2.35)	0.97 (0.37-2.55)
Unexposed ^c	88 (20.8)	27(14.0)	11 (18.6)				
2nd Trimester							
0110							
No	322 (76.1)	158 (81.9)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	6 (3.1)	3 (5.1)	1.11 (0.40-3.06)	0.98 (0.32-3.00)	1.95 (0.52-7.26)	1.99 (0.50-7.97)
1							
No	327 (77.3)	160 (82.9)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.36 (0.38-4.90)	1.04 (0.26-4.15)	2.37 (0.46-12.09)	3.15 (0.55-18.19)
2							
No	322 (76.1)	156 (80.9)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	8 (4.1)	1 (1.7)	1.50 (0.59-3.81)	1.28 (0.46-3.58)	0.62 (0.08-4.94)	0.51 (0.06-4.65)

3							
No	321 (75.9)	150 (77.7)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	12 (2.8)	14 (7.3)	7 (11.9)	2.50 (1.13-5.53)	1.82 (0.74-4.44)	4.57 (1.70-12.26)	3.64 (1.21-10.95)
341							
No	327 (77.3)	158 (81.9)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	6 (3.1)	1 (1.7)	4.14 (1.02-16.77)	2.95 (0.64-13.58)	2.32 (0.24-22.76)	2.70 (0.24-30.48)
341543220							
No	327 (77.3)	158 (81.9)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	6 (3.1)	1 (1.7)	12.49 (1.49-104)	8.34 (0.90-77.66)	7.00 (0.43-113)	4.50 (0.27-75.57)
343							
No	330 (78.0)	158 (81.9)	48 (81.4)	1.00	1.00		
Yes	3 (0.7)	6 (3.1)	0 (0.0)	4.18 (1.03-16.92)	2.45 (0.51-11.79)	0.00	0.00
4							
No	320 (75.7)	159 (82.4)	48 (81.4)	1.00	1.00		
Yes	13 (3.0)	5 (2.6)	0 (0.0)	0.77 (0.27-2.21)	1.02 (0.31-3.33)	0.00	0.00
5							
No	288 (68.1)	149 (77.2)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.6)	15 (7.8)	4 (6.8)	0.64 (0.35-1.19)	0.63 (0.32-1.21)	0.58 (0.20-1.70)	0.57 (0.19-1.71)
522045130							
No	313 (74.0)	154 (79.8)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	20 (4.7)	10 (5.2)	4 (6.8)	1.02 (0.46-2.22)	0.80 (0.33-1.96)	1.42 (0.46-4.36)	1.39 (0.43-4.50)
6							
No	306 (72.3)	148 (76.7)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	27 (6.4)	16 (8.3)	5 (8.5)	1.23 (0.64-2.34)	1.35 (0.65-2.79)	1.32 (0.48-3.60)	1.25 (0.42-3.78)
611161220							
No	315 (74.5)	156 (80.9)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	18 (4.2)	8 (4.1)	4 (6.8)	0.90 (0.38-2.11)	1.55 (0.58-4.16)	1.59 (0.52-4.92)	2.70 (0.74-9.85)
7							
No	213 (50.3)	113 (58.5)	35 (59.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	120 (28.4)	51 (26.4)	13 (22.0)	0.80 (0.54-1.19)	1.02 (0.66-1.59)	0.66 (0.37-1.30)	0.85 (0.41-1.75)
712295120							
No	286 (67.6)	149 (77.2)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	47 (11.1)	15 (7.8)	6 (10.2)	0.61 (0.33-1.13)	1.15 (0.58-2.27)	0.87 (0.35-2.16)	1.37 (0.48-3.90)
714							
No	325 (76.8)	157 (81.3)	48 (81.4)	1.00	1.00		
Yes	9 (2.1)	7 (3.7)	0 (0.0)	1.61 (0.59-4.40)	1.62 (0.53-4.93)	0.00	0.00

723							
No	322 (76.1)	159 (82.4)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	5 (2.6)	1 (1.7)	0.92 (0.31-2.70)	1.04 (0.33-3.24)	0.62 (0.08-4.94)	0.87 (0.15-6.77)
742							
No	325 (76.8)	161 (83.4)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	9 (2.1)	3 (1.6)	1 (1.7)	0.76 (0.20-2.89)	0.48 (0.10-2.40)	0.86 (0.11-70.1)	0.89 (0.10-7.67)
8							
No	289 (68.3)	140 (72.6)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	44 (10.4)	24 (12.4)	7 (11.9)	1.13 (0.66-1.93)	0.83 (0.45-1.54)	1.12 (0.47-2.65)	0.77 (0.30-1.96)
832							
No	307 (72.6)	151 (78.4)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	26 (6.1)	13 (6.7)	3 (5.1)	1.02 (0.51-2.03)	0.69 (0.31-1.56)	0.79 (0.23-2.71)	0.36 (0.08-1.70)
9							
No	289 (68.3)	143 (74.1)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	44 (10.4)	21 (10.9)	6 (10.2)	0.97 (0.55-1.68)	1.00 (0.54-1.86)	0.94 (0.38-2.34)	0.94 (0.36-2.50)
Unexposed ^c	90 (21.3)	29 (15.0)	11 (18.6)				
3rd Trimester							
0110							
No	318 (75.2)	160 (82.9)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	6 (3.1)	3 (5.1)	1.08 (0.39-2.99)	0.93 (0.30-2.86)	1.97 (0.53-7.34)	1.93 (0.48-7.75)
1							
No	322 (76.1)	162 (83.9)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.14 (0.33-3.94)	0.76 (0.20-2.90)	2.04 (0.41-10.15)	2.07 (0.37-11.71)
2							
No	318 (75.2)	158 (81.9)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	8 (4.1)	1 (1.7)	1.46 (0.58-3.71)	1.23 (0.44-3.44)	0.63 (0.08-4.98)	0.48 (0.05-4.46)
3							
No	317 (75.0)	152 (78.7)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	12 (2.8)	14 (7.3)	7 (11.9)	2.43 (1.10-3.39)	1.76 (0.72-4.30)	4.62 (1.72-12.42)	3.66 (1.21-11.03)
341							
No	326 (77.1)	160 (82.9)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	3 (0.7)	6 (3.1)	2 (3.4)	4.08 (1.01-16.50)	2.83 (0.61-13.05)	4.83 (0.79-29.69)	6.31 (0.87-46.02)
341543220							
No	328 (77.5)	160 (82.9)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00

Yes 343	1 (0.2)	6 (3.1)	1 (1.7)	12.30 (1.47-103)	8.11 (0.87-75.47)	7.13 (0.44-115.97)	4.42 (0.26-74.22)
No	326 (77.1)	160 (82.9)	47 (79.7)	1.00	1.00		
Yes 4	3 (0.7)	6 (3.1)	0 (0.0)	4.08 (1.01-16.50)	2.40 (0.50-11.55)	0.00	0.00
No	317 (75.0)	161 (83.4)	47 (79.7)	1.00	1.00		
Yes 5	12 (2.8)	5 (2.6)	0 (0.0)	0.82 (0.28-2.37)	1.05 (0.32-3.50)	0.00	0.00
No	286 (67.6)	151 (78.2)	43 (72.9)	1.00	1.00		
Yes 522045130	43 (10.2)	15 (7.8)	4 (6.8)	0.66 (0.36-1.23)	0.64 (0.33-1.26)	0.62 (0.21-1.81)	0.61 (0.20-1.84)
No	310 (73.3)	156 (80.9)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 6	19 (4.5)	10 (5.2)	4 (6.8)	1.05 (0.48-2.30)	0.83 (0.34-2.05)	1.52 (0.49-4.67)	1.49 (0.45-4.87)
No	303 (71.6)	148 (76.7)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 611161220	26 (6.2)	18 (9.3)	5 (8.5)	1.42 (0.75-2.67)	1.59 (0.78-3.24)	1.39 (0.51-3.81)	1.46 (0.48-4.42)
No	308 (72.8)	154 (79.8)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 7	21 (5.0)	12 (6.2)	4 (6.8)	1.14 (0.55-2.38)	1.56 (0.67-3.67)	1.36 (0.45-4.16)	2.02 (0.59-6.99)
No	208 (49.2)	115 (59.6)	35 (59.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 712295120	121 (28.6)	51 (26.4)	12 (20.3)	0.76 (0.51-1.14)	0.95 (0.61-1.48)	0.59 (0.30-1.18)	0.72 (0.34-1.51)
No	281 (66.4)	150 (77.7)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 714	48 (11.4)	16 (8.3)	5 (8.5)	0.58 (0.32-1.08)	1.10 (0.55-2.15)	0.70 (0.26-1.85)	1.08 (0.35-3.35)
No	320 (75.7)	159 (82.4)	47 (79.7)	1.00	1.00		
Yes 723	9 (2.1)	7 (3.7)	0 (0.0)	1.57 (0.57-4.28)	1.54 (0.50-4.69)	0.00	0.00
No	320 (75.7)	161 (83.4)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 742	9 (2.1)	5 (2.6)	1 (1.7)	1.10 (0.36-3.35)	1.43 (0.43-4.17)	0.77 (0.10-6.24)	0.89 (0.10-6.49)
No	321 (75.9)	163 (84.5)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 8	8 (1.9)	3 (1.6)	1 (1.7)	0.74 (0.19-2.82)	0.46 (0.09-2.33)	0.87 (0.11-7.14)	0.87 (0.10-7.55)
No	288 (68.1)	143 (74.1)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00

Yes 832	41 (9.7)	23 (11.9)	7 (11.9)	1.13 (0.65-1.96)	0.85 (0.45-1.61)	1.23 (0.52-2.93)	0.91 (0.35-2.35)
No	303 (71.7)	153 (79.3)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 9	26 (6.1)	13 (6.7)	3 (5.1)	0.99 (0.50-1.98)	0.72 (0.32-1.63)	0.80 (0.23-2.74)	0.41 (0.09-1.89)
No	284 (67.1)	144 (74.6)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.7)	22 (11.4)	6 (10.2)	0.96 (0.56-1.67)	1.03 (0.56-1.89)	0.92 (0.37-2.30)	0.94 (0.35-2.49)
Unexposed ^c	94 (22.2)	27 (4.0)	12 (20.3)				
1st Year							
0110							
No	318 (75.2)	160 (82.9)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	6 (3.1)	3 (5.1)	1.10 (0.40-3.02)	0.98 (0.32-3.00)	2.12 (0.57-7.90)	2.05 (0.51-8.23)
1							
No	322 (76.1)	161 (83.4)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	3 (1.6)	1 (1.7)	0.86 (0.22-3.36)	0.71 (0.17-2.93)	1.07 (0.13-8.91)	0.92 (0.10-8.39)
2							
No	318 (75.2)	156 (80.9)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	8 (4.1)	1 (1.7)	1.48 (0.59-3.76)	1.26 (0.45-3.54)	0.67 (0.09-5.34)	0.50 (0.06-4.60)
3							
No	318 (75.2)	150 (77.7)	38 (64.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	14 (7.3)	6 (10.1)	2.70 (1.20-6.09)	2.03 (0.81-5.08)	4.57 (1.60-13.05)	3.47 (1.08-11.16)
341							
No	328 (77.6)	158 (81.9)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.2)	6 (3.1)	1 (1.7)	12.46 (1.49-104)	8.70 (0.94-80.74)	7.63 (0.47-124)	12.48 (0.42-371)
341543220							
No	329 (77.8)	158 (81.9)	43 (72.9)				
Yes	0 (0.0)	6 (3.1)	1 (1.7)	0.00	0.00	0.00	0.00
343							
No	326 (77.1)	158 (81.9)	44 (74.6)	1.00	1.00		
Yes	3 (0.7)	6 (3.1)	0 (0.0)	4.13 (1.02-16.72)	2.41 (0.50-11.60)	0.00	0.00
4							
No	320 (75.7)	156 (80.9)	44 (74.6)	1.00	1.00		
Yes	9 (2.1)	8 (4.1)	0 (0.0)	1.82 (0.69-4.82)	1.81 (0.58-5.68)	0.00	0.00
5							

No	286 (67.6)	149 (77.2)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	43 (10.2)	15 (7.8)	4 (6.8)	0.67 (0.36-1.25)	0.66 (0.34-1.29)	0.67 (0.23-1.95)	0.64 (0.21-1.95)
522045130							
No	310 (73.3)	154 (79.8)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	19 (4.5)	10 (5.2)	4 (6.8)	1.06 (0.48-2.33)	0.86 (0.35-2.11)	1.63 (0.53-5.04)	1.59 (0.48-5.22)
6							
No	304 (71.8)	146 (75.7)	39 (66.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	25 (6.0)	18 (9.3)	5 (8.5)	1.50 (0.79-2.84)	1.52 (0.74-3.14)	1.56 (0.56-4.31)	1.56 (0.51-4.74)
611161220							
No	301 (71.1)	152 (78.8)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	20 (4.7)	12 (6.2)	4 (6.8)	1.19 (0.57-2.50)	1.37 (0.56-3.33)	1.51 (0.49-4.63)	2.06 (0.60-7.15)
7							
No	210 (49.6)	114 (59.1)	32 (54.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	119 (28.1)	50 (25.9)	12 (20.3)	0.77 (0.52-1.16)	0.96 (0.61-1.49)	0.66 (0.33-1.33)	0.84 (0.40-1.76)
712295120							
No	284 (67.1)	150 (77.7)	38 (64.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.6)	14 (7.3)	6 (10.2)	0.59 (0.31-1.11)	1.03 (0.52-2.07)	1.00 (0.40-2.49)	1.45 (0.51-4.14)
714							
No	319 (75.4)	157 (81.3)	44 (74.6)	1.00	1.00		
Yes	10 (2.3)	7 (3.7)	0 (0.0)	1.42 (0.53-3.81)	1.61 (0.53-4.90)	0.00	0.00
723							
No	320 (75.7)	159 (82.4)	44 (74.6)	1.00	1.00		
Yes	9 (2.1)	5 (2.6)	0 (0.0)	1.12 (0.37-3.39)	1.44 (0.43-4.75)	0.00	0.00
742							
No	321 (75.9)	161 (83.4)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	8 (1.9)	3 (1.6)	1 (1.7)	0.75 (0.20-2.86)	0.48 (0.10-2.41)	0.93 (0.11-7.64)	0.93 (0.11-8.05)
8							
No	284 (67.2)	141 (73.0)	37 (62.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	45 (10.6)	20 (10.4)	7 (11.9)	0.88 (0.50-1.54)	0.66 (0.34-1.26)	1.19 (0.50-2.84)	0.87 (0.34-2.24)
832							
No	304 (71.9)	153 (79.3)	41 (69.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	25 (5.9)	11 (5.7)	3 (5.1)	0.46 (0.09-2.36)	0.58 (0.24-1.37)	0.98 (0.11-8.54)	0.41 (0.09-1.94)
9							
No	281 (66.4)	139 (72.0)	39 (66.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	48 (11.3)	25 (13.0)	5 (8.5)	0.91 (0.53-1.56)	1.06 (0.58-1.94)	0.75 (0.28-2.00)	0.85 (0.30-2.37)

Unexposed ^c	94 (22.2)	29 (15.0)	15 (25.4)				
2nd Year^d							
0110							
No	116 (27.4)	81 (42.0)	20 (33.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	5 (2.6)	1 (1.7)	1.19 (0.35-4.04)	0.97 (0.24-3.97)	0.97 (0.11-8.46)	0.82 (0.08-8.09)
1							
No	120 (28.4)	83 (43.0)	21 (35.6)	1.00	1.00		
Yes	2 (0.5)	3 (1.6)	0 (0.0)	2.17 (0.36-13.26)	2.26 (0.32-15.70)	0.00	0.00
2							
No	112 (26.5)	81 (42.0)	21 (35.6)	1.00	1.00		
Yes	10 (2.4)	5 (2.6)	0 (0.0)	0.69 (0.23-2.10)	0.83 (0.25-2.76)	0.00	0.00
3							
No	118 (27.9)	77 (39.9)	18 (30.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	4 (0.9)	9 (4.7)	3 (5.1)	3.45 (1.03-11.59)	2.16 (0.54-8.69)	4.92 (1.02-23.80)	3.61 (0.66-19.80)
341							
No	122 (28.8)	82 (42.5)	20 (33.9)				
Yes	0 (0.0)	4 (2.1)	1 (1.7)	0.00	0.00	0.00	0.00
341543220							
No	122 (28.8)	82 (42.5)	20 (33.9)				
Yes	0 (0.0)	4 (2.1)	1 (1.7)	0.00	0.00	0.00	0.00
4							
No	119 (28.1)	83 (43.0)	21 (35.6)	1.00	1.00		
Yes	3 (0.7)	3 (1.6)	0 (0.0)	1.43 (0.28-7.28)	1.08 (0.17-7.00)	0.00	0.00
5							
No	103 (24.3)	80 (41.5)	19 (32.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	19 (4.5)	6 (3.1)	2 (3.4)	0.41 (0.16-1.07)	0.35 (0.12-0.99)	0.57 (0.12-2.65)	0.49 (0.09-2.62)
522045130							
No	115 (27.1)	84 (43.5)	20 (33.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	2 (1.0)	1 (1.7)	0.34 (0.07-1.65)	0.26 (0.05-1.38)	0.72 (0.09-6.06)	0.61 (0.06-6.23)
6							
No	115 (27.1)	81 (42.0)	19 (32.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	5 (2.6)	2 (3.4)	1.01 (0.31-3.31)	1.14 (0.29-4.40)	1.73 (0.33-8.96)	3.52 (0.44-28.47)
611161220							
No	116 (27.4)	84 (43.5)	19 (32.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.46 (0.09-2.36)	0.75 (0.12-4.81)	2.05 (0.39-10.93)	4.38 (0.49-38.87)

7							
No	89 (21.0)	57 (29.5)	16 (27.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	33 (7.8)	29 (15.0)	5 (8.5)	1.37 (0.75-2.50)	2.10 (1.04-4.24)	0.84 (0.29-2.48)	1.41 (0.42-4.72)
712295120							
No	106 (55.0)	79 (40.9)	19 (32.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	16 (3.8)	7 (3.6)	2 (3.4)	0.60 (0.24-1.52)	1.51 (0.52-4.37)	0.71 (0.15-3.34)	1.34 (0.26-7.25)
714							
No	118 (27.9)	82 (42.5)	21 (35.6)	1.00	1.00		
Yes	4 (0.9)	4 (2.1)	0 (0.0)	1.43 (0.35-5.90)	1.60 (0.34-7.53)	0.00	0.00
723							
No	120 (28.3)	82 (42.5)	21 (35.6)	1.00	1.00		
Yes	2 (0.5)	4 (2.1)	0 (0.0)	2.95 (0.53-16.49)	7.70 (0.75-78.63)	0.00	0.00
742							
No	120 (28.3)	84 (43.5)	20 (33.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	2 (0.5)	2 (1.0)	1 (1.7)	0.95 (0.16-5.82)	0.49 (0.05-5.29)	2.00 (0.20-20.19)	2.37 (0.21-26.23)
8							
No	101 (23.9)	77 (39.9)	16 (27.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	21 (5.0)	9 (4.7)	5 (8.5)	0.56 (0.24-1.30)	0.45 (0.17-1.17)	1.50 (0.50-4.55)	1.18 (0.35-4.03)
832							
No	109 (25.8)	80 (41.5)	19 (32.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	13 (3.1)	6 (3.1)	2 (3.4)	0.64 (0.23-1.74)	0.55 (0.17-1.76)	0.89 (0.19-4.27)	0.69 (0.13-3.75)
9							
No	104 (24.8)	74 (38.3)	18 (30.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	17 (4.0)	12 (6.2)	3 (5.1)	1.00 (0.45-2.22)	0.93 (0.38-2.27)	1.03 (0.27-3.87)	0.72 (0.17-3.03)
<12 mo.	258 (61.0)	84 (43.5)	27 (45.8)				
Unexposed ^c	43 (10.2)	23 (11.9)	11 (18.6)				

a, Adjusted Odds Ratio by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at birth, maternal education, birth weight and infant skin color ; b, three months before pregnancy.; c, retired or unemployed; ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; n=number of cases; Adj OR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; mo.=months.

Table 3 – Leukemia risk related to maternal occupation before and during pregnancy.

Maternal ISCO Code	Controls (n=423), n (%)	ALL (n=193), n (%)	AML (n=59), n (%)	ALL		AML	
				OR (95% CI)	OR Ajust ^a (95% CI)	OR (95% CI)	OR Ajust ^a (95% CI)
Preconception ^b							
Housewife							
No	180 (42.6)	86 (44.6)	32 (54.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	190 (44.9)	71 (36.8)	20 (33.9)	0.78 (0.54-1.14)	0.94 (0.62-1.44)	0.60 (0.33-1.07)	0.63 (0.32-1.22)
1							
No	369 (87.3)	156 (80.8)	52 (88.1)	1.00			
Yes	1 (0.2)	1 (0.5)	0 (0.0)	2.36 (0.15-38.06)	0.00	0.00	0.00
2							
No	365 (86.3)	154 (79.8)	50 (84.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	3 (1.5)	2 (3.4)	1.42 (0.34-6.02)	1.31 (0.28-6.08)	2.92 (0.55-15.45)	1.60 (0.25-10.21)
3							
No	360 (85.1)	147 (76.2)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	10 (2.4)	14 (7.1)	6 (10.2)	3.52 (1.53-8.12)	2.73 (1.07-6.95)	4.70 (1.63-13.52)	4.62 (1.37-15.60)
343							
No	369 (87.3)	154 (79.8)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.2)	3 (1.6)	3 (5.1)	7.19 (0.74-69.65)	4.41 (0.37-52.43)	22.59 (2.31-221.5)	15.27 (1.23-189.3)
4							
No	349 (82.5)	141 (73.0)	47 (79.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	21 (5.0)	16 (8.3)	5 (8.5)	1.89 (0.96-3.72)	1.13 (0.51-2.53)	1.77 (0.64-4.91)	1.45 (0.49-4.28)
5							
No	318 (75.2)	137 (71.0)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	52 (12.3)	20 (10.3)	7 (11.9)	0.89 (0.51-1.55)	0.70 (0.37-1.34)	0.95 (0.41-2.22)	0.97 (0.39-2.39)
522045130							
No	350 (82.7)	146 (75.6)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	20 (4.7)	11 (5.7)	3 (5.1)	1.32 (0.62-2.82)	1.26 (0.53-3.03)	1.07 (0.31-3.74)	1.50 (0.40-5.61)
6							
No	362 (85.6)	144 (74.6)	50 (84.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	8 (1.9)	17 (8.8)	2 (3.4)	1.18 (0.35-3.99)	1.01 (0.25-4.10)	1.81 (0.37-8.76)	1.66 (0.30-9.14)
611161220							
No	363 (85.8)	155 (80.3)	50 (84.7)	1.00	1.00	1.00	1.00

Yes 7	7 (1.7)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.67 (0.14-3.26)	0.31 (0.04-2.72)	2.07 (0.42-10.26)	1.82 (0.32-10.45)
No	356 (84.2)	152 (78.7)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 743	14 (3.3)	5 (2.6)	3 (5.1)	0.84 (0.30-2.36)	1.34 (0.43-4.20)	1.56 (0.43-5.61)	2.66 (0.64-11.06)
No	361 (85.3)	154 (79.8)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 8	9 (2.1)	3 (1.6)	3 (5.1)	0.78 (0.21-2.93)	1.51 (0.37-6.20)	2.46 (0.64-9.38)	4.84 (1.09-21.56)
No	368 (87.0)	157 (81.3)	51 (86.4)			1.00	1.00
Yes 9	2 (0.5)	0 (0.0)	1 (1.7)	0.00	0.00	3.61 (0.32-40.50)	4.80 (0.27-86.12)
No	303 (71.7)	134 (37.3)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 913154020	67 (15.8)	23 (12.0)	6 (10.2)	0.77 (0.46-1.30)	0.94 (0.53-1.68)	0.59 (0.24-1.44)	0.41 (0.12-1.40)
No	313 (74.0)	138 (71.5)	46 (77.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	57 (13.5)	19 (9.8)	6 (10.2)	0.76 (0.43-1.32)	0.97 (0.52-1.80)	0.72 (0.29-1.76)	0.51 (0.15-1.74)
Unexposed ^c	53 (12.5)	36 (18.7)	7 (11.9)				
1st Trimester							
Housewife							
No	172 (40.7)	79 (40.9)	33 (55.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 1	201 (47.5)	78 (40.4)	20 (33.9)	0.85 (0.58-1.23)	0.98 (0.64-1.50)	0.52 (0.29-0.94)	0.54 (0.28-1.05)
No	372 (88.0)	156 (80.8)	53 (89.8)	1.00			
Yes 2	1 (1.2)	1 (0.5)	0 (0.0)	2.39 (0.15-38.36)	0.00	0.00	0.00
No	368 (87.0)	155 (80.3)	51 (86.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 3	5 (1.2)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.95 (0.18-4.95)	0.74 (0.13-4.24)	2.89 (0.55-15.27)	1.51 (0.23-9.77)
No	363 (85.8)	142 (73.5)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 343	10 (2.4)	15 (7.8)	6 (6.8)	3.84 (1.68-8.74)	3.19 (1.28-7.92)	4.63 (1.61-13.33)	5.53 (1.70-18.02)
No	372 (88.0)	153 (79.3)	50 (84.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 4	1 (1.2)	4 (2.0)	3 (5.1)	9.73 (1.08-87.72)	6.37 (0.62-64.99)	22.32 (2.28-218.7)	15.54 (1.25-193.09)

No	373 (88.2)	157 (81.3)	53 (89.8)				
Yes	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00	0.00	0.00	0.00
5							
No	327 (77.3)	134 (69.4)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	46 (10.9)	23 (11.9)	7 (11.8)	1.22 (0.71-2.09)	1.04 (0.58-1.88)	1.08 (0.46-2.54)	1.02 (0.41-2.55)
522045130							
No	357 (84.4)	145 (75.1)	50 (84.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	16 (3.8)	12 (6.2)	3 (5.1)	1.85 (0.85-4.00)	1.66 (0.70-3.95)	1.34 (0.38-4.76)	1.80 (0.48-6.87)
6							
No	365 (86.3)	153 (79.3)	51 (86.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	8 (1.9)	4 (2.0)	2 (3.4)	1.19 (0.35-4.02)	1.07 (0.28-4.12)	1.79 (0.37-8.66)	1.54 (0.27-8.74)
611161220							
No	366 (86.5)	155 (80.4)	52 (88.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	2 (1.0)	1 (1.7)	0.68 (0.14-3.28)	0.30 (0.03-2.58)	1.01 (0.12-8.34)	0.90 (0.10-8.30)
7							
No	358 (84.6)	152 (78.7)	50 (84.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	15 (3.6)	5 (2.6)	3 (5.1)	0.78 (0.28-2.20)	0.95 (0.31-2.91)	1.43 (0.40-5.12)	1.75 (0.43-7.09)
743							
No	364 (86.1)	154 (79.8)	50 (84.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	9 (2.1)	3 (1.6)	3 (5.1)	0.79 (0.21-2.95)	1.51 (0.37-6.16)	2.43 (0.64-9.26)	4.81 (1.08-21.49)
8							
No	371 (87.7)	156 (80.8)	52 (88.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	2 (0.5)	1 (0.5)	1 (1.7)	1.19 (0.11-13.21)	0.30 (0.02-4.34)	3.57 (0.32-40.03)	2.13 (0.17-26.32)
9							
No	309 (73.1)	141 (73.0)	45 (76.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	64 (15.1)	16 (8.3)	8 (13.6)	0.55 (0.31-0.98)	0.70 (0.33-1.31)	0.86 (0.39-1.91)	0.89 (0.37-2.13)
913154020							
No	318 (75.2)	144 (74.6)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	55 (13.0)	13 (6.7)	7 (11.8)	0.52 (0.27-0.98)	0.77 (0.39-1.52)	0.88 (0.38-2.05)	0.72 (0.24-2.17)
Unexposed ^c	50 (11.8)	36 (18.7)	6 (10.2)				
2nd Trimester							
Housewife							
No	164 (38.8)	78 (40.4)	33 (56.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	209 (49.4)	79 (41.0)	19 (32.2)	0.80 (0.55-1.16)	0.92 (0.61-1.38)	0.45 (0.25-0.82)	0.50 (0.27-0.95)

1							
No	372 (88.0)	156 (80.9)	52 (88.2)	1.00	1.00		
Yes	1 (1.2)	1 (0.5)	0 (0.0)	2.39 (0.15-38.36)	0.00	0.00	0.00
2							
No	368 (87.0)	155 (80.4)	50 (84.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.95 (0.18-4.95)	0.74 (0.13-4.22)	2.94 (0.56-15.58)	1.53 (0.24-9.91)
3							
No	364 (86.1)	141 (73.1)	47 (79.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	9 (2.1)	16 (8.3)	5 (8.5)	4.59 (1.98-10.63)	3.65 (1.46-9.13)	4.30 (1.38-13.38)	5.01 (1.40-17.85)
343							
No	372 (88.0)	153 (79.3)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (1.2)	4 (2.1)	3 (5.1)	9.73 (1.08-87.72)	6.33 (0.62-64.52)	22.78 (2.32-223)	16.07 (1.29-198.74)
4							
No	352 (83.2)	145 (75.1)	48 (81.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	21 (5.0)	12 (6.2)	4 (6.8)	1.39 (0.67-2.89)	1.01 (0.45-2.29)	1.40 (0.46-4.24)	1.24 (0.38-3.99)
5							
No	329 (77.8)	134 (69.4)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	44 (10.4)	23 (12.0)	8 (13.6)	1.28 (0.75-2.21)	1.08 (0.60-1.96)	1.36 (0.60-3.08)	1.32 (0.55-3.18)
522045130							
No	360 (85.1)	146 (75.6)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	13 (3.1)	11 (5.7)	3 (5.1)	2.09 (0.91-4.76)	1.94 (0.78-4.81)	1.70 (0.47-6.16)	2.22 (0.57-8.68)
6							
No	365 (86.3)	153 (79.3)	50 (84.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	8 (1.9)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.19 (0.35-4.02)	1.07 (0.28-4.12)	1.83 (0.38-8.84)	1.54 (0.27-8.78)
611161220							
No	366 (86.5)	155 (80.4)	50 (84.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	7 (1.7)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.68 (0.14-3.28)	0.30 (0.03-2.58)	2.09 (0.42-10.35)	1.71 (0.30-9.66)
7							
No	358 (84.6)	153 (79.3)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	15 (3.6)	4 (2.1)	3 (5.1)	0.62 (0.20-1.91)	0.80 (0.25-2.62)	1.46 (0.41-5.23)	1.63 (0.41-6.50)
743							
No	364 (86.1)	154 (79.8)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	9 (2.1)	3 (1.6)	3 (5.1)	0.79 (0.21-2.95)	1.40 (0.34-5.73)	2.48 (0.65-9.46)	4.43 (1.01-19.46)
8							
No	371 (87.7)	157 (81.3)	51 (86.5)			1.00	1.00
Yes	2 (0.5)	0 (0.0)	1 (1.7)	0.00	0.00	3.64 (0.32-40.83)	2.13 (0.18-25.46)

9							
No	314 (74.2)	141 (73.1)	44 (74.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	59 (14.0)	16 (8.3)	8 (13.7)	0.60 (0.34-1.09)	0.74 (0.39-1.39)	0.97 (0.43-2.16)	0.93 (0.39-2.25)
913154020							
No	323 (76.4)	146 (75.6)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	50 (11.8)	11 (5.8)	7 (11.8)	0.49 (0.25-0.96)	0.70 (0.34-1.44)	1.01 (0.43-2.35)	0.78 (0.26-2.38)
Unexposed ^c	50 (11.8)	36 (18.6)	7 (11.8)				
3rd Trimester							
Housewife							
No	160 (37.8)	73 (37.8)	28 (47.5)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	213 (50.4)	84 (43.6)	23 (39.0)	0.86 (0.59-1.26)	0.96 (0.64-1.44)	0.62 (0.34-1.11)	0.68 (0.36-1.29)
1							
No	372 (87.9)	157 (81.4)	51 (86.5)				
Yes	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00	0.00	0.00	0.00
2							
No	368 (87.0)	155 (80.3)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.95 (0.18-4.95)	0.77 (0.13-4.37)	3.00 (0.57-15.91)	1.61 (0.25-10.48)
3							
No	365 (86.3)	145 (75.2)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	8 (1.9)	12 (6.2)	5 (8.5)	3.78 (1.51-9.43)	3.22 (1.22-8.53)	4.96 (1.56-15.80)	5.81 (1.57-21.50)
343							
No	372 (87.9)	154 (79.8)	48 (81.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.2)	3 (1.6)	3 (5.1)	7.25 (0.75-70.21)	6.97 (0.69-70.06)	23.25 (2.37-228)	17.36 (1.39-217)
4							
No	354 (86.7)	145 (75.2)	48 (81.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	19 (4.5)	12 (6.2)	3 (5.1)	1.54 (0.73-3.26)	1.14 (0.50-2.60)	1.16 (0.33-4.08)	0.97 (0.26-3.64)
5							
No	327 (77.3)	133 (69.0)	43 (72.9)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	46 (10.9)	24 (12.4)	8 (13.6)	1.28 (0.75-2.19)	1.10 (0.62-1.97)	1.32 (0.59-2.99)	1.28 (0.53-3.09)
522045130							
No	360 (85.1)	143 (74.1)	48 (81.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	13 (3.1)	14 (7.3)	3 (5.1)	2.71 (1.24-5.91)	2.25 (0.95-5.36)	1.73 (0.48-6.29)	2.10 (0.54-8.19)
6							
No	366 (86.5)	153 (79.3)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00

Yes 611161220	7 (1.7)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.37 (0.39-4.74)	1.25 (0.31-5.00)	2.13 (0.43-10.57)	1.81 (0.30-11.00)
No	367 (86.8)	155 (80.4)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 7	6 (1.4)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.79 (0.16-3.95)	0.35 (0.04-3.12)	2.50 (0.50-12.72)	2.04 (0.34-12.23)
No	360 (85.1)	153 (79.3)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 743	13 (3.1)	4 (2.1)	2 (3.4)	0.72 (0.23-2.26)	0.83 (0.25-2.75)	1.13 (0.25-5.16)	1.10 (0.22-5.64)
No	364 (86.1)	154 (79.8)	49 (83.1)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 8	9 (2.1)	3 (1.6)	2 (3.4)	0.89 (0.23-3.39)	1.26 (0.31-5.11)	1.86 (0.38-9.00)	2.62 (0.48-14.24)
No	371 (87.7)	156 (80.9)	50 (84.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 9	2 (0.5)	1 (0.5)	1 (1.7)	1.19 (0.11-13.21)	0.83 (0.07-10.51)	3.71 (0.33-41.66)	2.24 (0.19-26.84)
No	314 (74.2)	143 (74.1)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 913154020	59 (14.0)	14 (7.3)	5 (8.5)	0.52 (0.28-0.95)	0.61 (0.32-1.18)	0.58 (0.22-1.52)	0.59 (0.21-1.64)
No	321 (75.9)	147 (76.2)	47 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	52 (12.3)	10 (5.2)	4 (6.7)	0.42 (0.21-0.85)	0.60 (0.28-1.25)	0.53 (0.18-1.52)	0.54 (0.16-1.88)
Unexposed ^c	50 (11.8)	36 (18.6)	8 (13.5)				
1st Year							
Housewife							
No	134 (31.7)	68 (35.2)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 1	241 (57.0)	89 (46.2)	23 (39.0)	0.73 (0.50-1.06)	0.71 (0.47-1.07)	0.53 (0.29-0.98)	0.57 (0.29-1.12)
No	374 (88.5)	157 (81.4)	47 (79.7)				
Yes 2	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00	0.00	0.00	0.00
No	370 (87.5)	155 (80.3)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 3	5 (1.2)	2 (1.0)	2 (3.4)	0.96 (0.18-4.98)	0.76 (0.13-4.33)	3.29 (0.62-17.45)	1.62 (0.24-10.80)
No	366 (86.6)	145 (75.1)	42 (71.2)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes 343	9 (2.1)	12 (6.2)	5 (8.5)	3.37 (1.39-8.16)	2.98 (1.18-7.49)	4.84 (1.55-15.12)	4.03 (1.06-15.26)

No	373 (88.2)	153 (79.3)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	2 (0.5)	4 (2.1)	3 (5.1)	3.63 (0.60-21.96)	3.28 (0.53-20.52)	12.72 (2.07-78.19)	7.28 (0.90-59.08)
4							
No	361 (85.4)	148 (77.7)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	14 (3.3)	9 (4.7)	3 (5.1)	1.57 (0.66-3.70)	1.25 (0.50-3.14)	1.76 (0.49-6.36)	1.27 (0.33-4.87)
5							
No	337 (79.7)	135 (70.0)	40 (67.8)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	38 (9.0)	22 (11.4)	7 (11.9)	1.45 (0.82-2.54)	1.35 (0.73-2.47)	1.55 (0.65-3.71)	1.51 (0.59-3.87)
522045130							
No	367 (86.8)	144 (74.7)	44 (74.6)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	8 (1.9)	13 (6.7)	3 (5.1)	4.14 (1.68-10.20)	4.43 (1.65-11.95)	3.13 (0.80-12.23)	3.77 (0.88-16.16)
6							
No	369 (87.3)	153 (79.3)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	4 (2.1)	2 (3.4)	1.61 (0.45-5.78)	2.13 (0.54-8.50)	2.73 (0.54-13.95)	2.74 (0.41-12.53)
611161220							
No	370 (87.5)	156 (80.9)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	1 (0.5)	2 (3.4)	0.47 (0.06-4.09)	0.43 (0.05-4.15)	3.29 (0.62-17.45)	3.13 (0.47-20.85)
7							
No	364 (86.1)	153 (79.3)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	11 (2.6)	4 (2.1)	2 (3.4)	0.87 (0.27-2.76)	1.13 (0.33-3.83)	1.47 (0.32-6.85)	1.92 (0.36-10.14)
743							
No	370 (87.5)	154 (79.8)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	3 (1.6)	2 (3.4)	1.44 (0.34-6.11)	1.91 (0.44-8.33)	3.29 (0.62-17.45)	5.07 (0.88-29.30)
8							
No	374 (88.5)	156 (80.9)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.2)	1 (0.5)	1 (1.7)	2.40 (0.15-38.57)	2.69 (0.15-48.79)	8.13 (0.50-132)	5.47 (0.32-92.59)
9							
No	326 (77.1)	143 (74.1)	45 (76.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	49 (11.6)	14 (7.3)	2 (3.4)	0.65 (0.35-1.22)	0.75 (0.39-1.47)	0.30 (0.07-1.26)	0.30 (0.07-1.35)
913154020							
No	339 (80.2)	147 (76.2)	46 (78.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	36 (8.5)	10 (5.2)	1 (1.7)	0.64 (0.31-1.33)	0.93 (0.43-2.01)	0.21 (0.03-1.53)	0.27 (0.04-2.15)
Unexposed ^c	48 (11.3)	36 (18.6)	12 (20.3)				

2nd Year^d

Housewife							
No	60 (14.2)	38 (19.7)	12 (20.4)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	93 (22.0)	50 (25.9)	13 (22.0)	0.85 (0.50-1.45)	0.87 (0.48-1.57)	0.70 (0.30-1.63)	0.77 (0.30-2.01)
1							
No	153 (36.2)	88 (45.6)	25 (42.4)				
Yes	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00	0.00	0.00	0.00
2							
No	151 (35.7)	87 (45.1)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	2 (0.5)	1 (0.5)	1 (1.7)	0.87 (0.08-9.71)	0.61 (0.04-9.06)	3.15 (0.28-36.0)	1.84 (0.11-29.88)
3							
No	149 (35.2)	81 (42.0)	22 (37.3)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	4 (0.9)	7 (3.6)	3 (5.1)	3.22 (0.92-11.33)	2.63 (0.68-10.26)	5.08 (1.07-24.23)	4.29 (0.69-26.86)
343							
No	152 (35.9)	85 (44.0)	23 (40.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	1 (0.3)	3 (1.6)	2 (3.4)	5.37 (0.55-52.83)	2.68 (0.25-29.25)	13.22 (1.15-151.7)	8.49 (0.63-114.7)
4							
No	147 (34.7)	81 (42.0)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	7 (3.6)	1 (1.7)	2.12 (0.69-6.51)	1.21 (0.34-4.32)	1.02 (0.12-8.86)	0.67 (0.07-6.52)
5							
No	138 (32.6)	77 (39.9)	23 (40.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	15 (3.5)	11 (5.7)	2 (3.4)	1.31 (0.58-3.00)	1.08 (0.43-2.71)	0.80 (0.17-3.73)	0.60 (0.11-3.11)
522045130							
No	148 (35.0)	82 (42.5)	23 (40.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	5 (1.2)	6 (3.1)	2 (3.4)	1.81 (0.51-6.42)	2.62 (0.64-10.81)	1.29 (0.14-11.52)	1.54 (0.15-15.45)
6							
No	149 (35.2)	86 (44.6)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	4 (0.9)	2 (1.1)	1 (1.7)	0.87 (0.16-4.83)	0.44 (0.04-4.82)	1.55 (0.17-14.82)	1.50 (0.11-21.53)
611161220							
No	150 (35.5)	88 (0.0)	24 (40.7)			1.00	1.00
Yes	3 (0.7)	0 (0.0)	1 (1.7)	0.00	0.00	2.08 (0.21-20.86)	1.77 (0.11-28.29)
7							
No	147 (34.7)	86 (44.6)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	6 (1.4)	2 (1.1)	1 (1.7)	0.57 (0.11-2.89)	0.68 (0.12-3.79)	1.02 (0.12-8.86)	1.07 (0.11-10.11)
743							
No	150 (35.5)	87 (45.1)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	3 (0.7)	1 (0.5)	1 (1.7)	0.58 (0.06-5.61)	0.61 (0.06-6.58)	2.08 (0.21-20.86)	1.58 (0.15-17.00)

8							
No	153 (36.2)	88 (45.6)	24 (40.7)				
Yes	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.7)	0.00	0.00	0.00	0.00
9							
No	130 (30.7)	80 (41.5)	23 (39.0)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	23 (5.5)	8 (4.1)	2 (3.4)	0.57 (0.24-1.32)	0.90 (0.35-2.36)	0.49 (0.11-2.23)	0.73 (0.14-3.76)
913154020							
No	134 (31.7)	81 (42.0)	24 (40.7)	1.00	1.00	1.00	1.00
Yes	19 (4.5)	7 (3.6)	1 (1.7)	0.61 (0.25-1.51)	1.26 (0.46-3.43)	0.29 (0.04-2.30)	0.69 (0.08-5.85)
<12 months	255 (60.3)	84 (43.5)	27 (45.8)				
Unexposed ^c	15 (3.5)	21 (10.9)	7 (11.8)				

a, Adjusted Odds Ratio by use of oral contraceptives during pregnancy, maternal age at birth, maternal education, birth weight and infant skin color ; b, three months before pregnancy.; c, retired or unemployed; ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; n=number of cases; Adj OR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval; mo.=months.

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese de doutorado se propôs a explorar alguns dos fatores etiopatogênicos de leucemias em menores de 2 anos, por meio de dados provenientes de um estudo caso-controle nacional de base hospitalar, realizado em parceria com o Instituto Nacional do Câncer. Acredita-se na hipótese que a leucemia resulte de interações entre fatores ambientais e genéticos e, dessa forma, esta tese de doutorado teve como objetivo avaliar a contribuição do estilo de vida materno, por meio do consumo de fumo e álcool, e da exposição ocupacional materna e paterna no processo leucemogênico em menores de 2 anos.

O primeiro artigo deste estudo foi construído a fim de avaliar a magnitude de associação entre o consumo de fumo materno durante os períodos pré-concepcional, gestacional e amamentação e as leucemias agudas, contrapondo os achados com resultados apresentados na literatura internacional. Nossos resultados apoiam a hipótese de que o consumo de fumo durante os períodos referidos acima pode influenciar o desenvolvimento de LLA em menores de 2 anos, sendo as mães fumantes intensas (≥ 20 cigarros por dia).

No segundo artigo buscou-se avaliar a associação entre o consumo de álcool materno no período gestacional e o desenvolvimento de leucemia em menores de 2 anos, partindo da premissa que os metabólitos gerados pela degradação do álcool afetam o DNA dos gametas e das células fetais, além dos possíveis efeitos oriundos da interação entre o álcool e o fumo. Todavia, os resultados obtidos não apresentaram evidências para corroborar esta hipótese.

Em se tratando de gestantes, tal grupo encontra-se em um período propício ao acolhimento e ações educativas direcionadas, uma vez que a mulher está sensibilizada com a gravidez. Sendo assim, uma estratégia para evitar a exposições intrauterinas que possam ser prejudiciais ao binômio mãe e concepto, é a abordagem destas mulheres nas consultas de pré-natal. A informação individualizada durante as consultas ou ainda, esclarecimentos em grupo com a temática antes das consultas pré-natais, por meio de salas de espera, poderiam influenciar mudanças no estilo de vida ainda na gestação e, conseqüentemente reduzir o risco de leucemias infantis e outros agravos.

Para o estudo apresentado no terceiro artigo, utilizamos as informações recordatórias das mães acerca das trajetórias profissionais pessoais e do pai da criança, no período anterior a gestação até o mais atual, no momento da entrevista. Baseado na hipótese de que a exposição a substâncias químicas influenciam a suscetibilidade de desenvolvimento de leucemia na infância.

Este fato decorre dos resultados de alguns estudos sugerindo que os mecanismos que levam ao desenvolvimento de patologias congênitas podem estar diretamente associados à toxicidade de substâncias químicas decorrente da exposição durante o período gestacional.

Observamos com este trabalho que as mães que relataram como sua ocupação principal as tarefas domésticas sendo empregada doméstica ou dona de casa, durante o período gestacional e o primeiro ano de vida, apresentaram efeito protetor ao risco de leucemias. Os trabalhadores estão expostos a uma gama de compostos nocivos no ambiente laboral, assim o ambiente doméstico parece reduzir o potencial risco de alterações adversas no desenvolvimento do concepto.

Por fim, é importante ressaltar que não foram encontrados na literatura latino-americana, estudos realizados com crianças menores de 2 anos explorando a hipótese de que a exposição ao fumo e ao álcool durante a gestação, somados à contribuição de exposições ocupacionais maternas e paternas estejam associadas ao desenvolvimento de leucemia na infância. O período dos 1000 dias constitui uma janela de vulnerabilidade, cuja pesquisa acerca dos fatores ambientais e/ou genéticos pode preencher algumas lacunas do conhecimento na etiologia das leucemias na infância.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adair LS, Fall CHD, Osmon C, Stein AD, Martorell R, Ramirez-Zea M, Sachdev HS, Dahly D, Bas I, Norris SA, Micklesfield L, Hallal P, Victora CG. Associations of linear growth and relative weight gain during early life with adult health and human capital in countries of low and middle income: findings from five birth cohort studies. *Lancet* 2013; 382:525–34.

Alfred G, Knudson JR. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1971; 68(4):820-3.

Anderson, L. M., Chhabra, S. K., Nerurkar, P. V., Souliotis, V. L., and Kyrtopoulos, S. A. Alcohol-related cancer risk: A toxicokinetic hypothesis. *Alcohol* 1995;12:97–104.

Armstrong BK, Boffetta P. Cancer. Environmental cancer. II: Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. 4 ed. v.1. Geneva: International Labour Office, 1998.

Bagby GC, Heinrich M. Growth factors, cytokines, and the control hematopoiesis. In: Hoffman R, Benz Jr, Shattil R. Hematology: basic principles and practice. 3ed. Cap 14. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000.

Bhatia S, Ross JA, Greaves MF, Robinson LL. Epidemiology and etiology. In: Childhood Leukemias, 2000; 38-49.

Belson, M.; Kingsley, B.; Holmes, A. Risk factors for Acute Leukemia in children: A Review. *Environmental Health Perspectives*, 2007 jan;115 (1):138-145.

Béné MC, Bernier M, Castoldi G, Faure GC, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Veer M. Impact of Immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica*, 1999;84:1024-34.

Béné MC. Immunophenotyping of acute leukaemias. *Immunology Letters*. 2005;98(1):9–21.

Buffler, P. A.; Kwan, M. L.; Reynolds, P.; Urayama, K. Y. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. *Cancer Invest*, 2005;23:60–75.

Burd L, Roberts D, Olson M, Odendaal H. Ethanol and the placenta: a review. *J Mat-Fetal Neon Med* 2007; 20(5):361-75.

Burd, L. Fetal alcohol spectrum disorders. São Paulo: Conference at the 1st ABRAMD Congress, 2008.

Burd L, Blair J and Dropps K. Prenatal alcohol exposure, blood alcohol concentrations and alcohol elimination rates for the mother, fetus and newborn. J Perinatol. Sep 2012;32(9):652-659.

Clarren SK, Smith DW. The fetal alcohol syndrome. N. Eng. J. Med. 1978;298:1063-1067.

Cnattingius S, Zack MM, Ekblom A et al. Prenatal and neonatal risk factors for childhood lymphatic leukemia. J Natl Cancer Inst, 1995;87:908–914.

Coebergh JW, Reedijk AM, de Vries E, Martos C, Jakab Z, Steliarova Foucher E, Kamps WA. 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, 2006;42(13):2019-2036.

Couto AC, Ferreira JD, Koifman S, Pombo-de-Oliveira MS; Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia. Familial history of cancer and leukemia in children younger than 2 years of age in Brazil. Eur J Cancer Prev, 2013 Mar;22(2):151-7.

Couto AC, Ferreira JD, Rosa AC, Pombo-de-Oliveira MS, Koifman S; Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia. Pregnancy, maternal exposure to

hair dyes and hair straightening cosmetics, and early age leukemia. Chem Biol Interact, 2013 Sep 5;205(1):46-52.

Couto AC, Ferreira JD, Pombo-de-Oliveira MS, Koifman S. Pregnancy, maternal exposure to analgesic medicines, and leukemia in Brazilian children below 2 years of age. Eur J Cancer Prev, 2015 May;24(3):245-52.

DATASUS. CID-10 Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas relacionados à Saúde. Capítulo C81-C96 Neoplasias [tumores] malignas (os), declaradas ou presumidas como primárias dos tecidos linfático, hematopoético e tecidos correlatos. 2008. [acesso 10 ago 2013]. Disponível em URL: http://www.datasus.gov.br/cid10/V2008/WebHelp/c81_c96.htm

Deziel NC, Colt JS, Kent EE, et al. Associations between self-reported pest treatments and pesticide concentrations in carpet dust. Environmental Health, 2015;14:27.

Doll R, Peto R. The Causes of Cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. New York: Oxford University Press, 1981.

Edgar K, Morgan A. Does Infection Cause or Prevent Childhood Leukaemia? A review of the scientific evidence. 2008:24-6.

Emerenciano, M.; Koifman, S.; Pombo-de-Oliveira, M. S. Acute Leukemia in early childhood. *Braz J Med Biol Res*, 2007;40(6):749-760.

Fabia J, Thuy TD. (1974). Occupation of father at time of birth of children dying of malignant diseases. *Brit J prev soc Med* 28:98-100.

Felix CA, Hosler MR, Winick NJ, Masterson M, Wilson AE, Lange BJ. *ALL-1* Gene Rearrangements ins DNA Topoisomerase II Inhibitor-Related Leukemia in Children. *Blood*, 1995;85 (11): 350-3256.

Ferreira JD, Couto AC, Pombo-de-Oliveira MS, Koifman S; Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia. Pregnancy, maternal tobacco smoking, and early age leukemia in Brazil. *Front Oncol*. 2012;151(2):1-8.

Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Lyon: IARC Press; 2004. (IARC Cancer Base, 5).

Finkel T, Serrano M, Blasco MA. The common biology of cancer and ageing. *Nature* 2007; 448:767-774.

Fonseca MRCC, Fonseca E, Bergsten-Mendes G. Prevalência do uso de medicamentos na gravidez: uma abordagem farmacoepidemiológica. *Revista de Saúde Pública* 2002; 36(2):205-212.

GLOBOCAN 2012 (IARC): Section of Cancer Information. Age-specific table incidence of all types of cancer in Brazil in 2008. 2008. [acesso 15 mai 2015]. Disponível em URL: http://globocan.iarc.fr/old/age-specific_table_r.asp?selection=24076&title=Brazil&sex=0&type=0&stat=0&window=1&sort=0&submit=%C2%A0Execute

Goggings WB, Lo FFK. Racial and ethnic disparities in survival of US children with acute lymphoblastic leukemia: evidence from SEER database 1988-2008. *Cancer Causes Control*, 2012; 23(5):737-743.

Goodlett, CR & Horn, KH. Mechanism of alcohol induced damage to the developing nervous system. *Alcohol Health & Research World*, 2001;25:175 – 167.

Greaves MF. Childhood Leukemia. *BMJ*, 2002; 324: 283-287.

Greaves M. In utero origins of childhood acute leukemia. *Early Hum Dev*, 2005; 81(1):123-129.

Greaves M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nat rev Cancer*, 2006;6(3):193-203.

Grinfeld H. Consumo de álcool nocivo durante a gravidez. In: Andrade, A. G. (Ed.); Anthony, J. C. (Ed.); Silveira, C. M. (Co-ed.). *Álcool e suas consequências: uma abordagem multiconceitual*. Barueri, SP: Minha Editora, 2009. 179-199.

Gontijo EEL, Lourenço AFE, Dias TC, da Silva MG. Prevalência de medicamentos prescritos para gestantes atendidas na Policlínica de Gurupi-TO, Brasil. *Revista Amazônia Science and Health*, 2015; 3(2):16-23.

González CA, Agudo A. Occupational cancer in Spain. *Environmental Health Perspectives* 1999, 107; Supplement 2.

Hamby-Mason, R.; Chen, J. J.; Schenker, S.; Perez, A.; and Henderson, G. I. Catalase mediates acetaldehyde formation from ethanol in fetal and neonatal rat brain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 1997; 21:1063-1072.

Hamerschlak N. Leucemia: fatores prognósticos e genética. *J. Pediatr.* 2008;84(4): suppl.:S52-57.

Homann, N.. Alcohol and upper gastrointestinal tract cancer: The role of local acetaldehyde production. *Addict. Biol*, 2001;6:309–323.

Hunger SP, et al. Oncogenesis in utero: fetal death due to acute myelogenous leukaemia with an MLL translocation. *Br. J. Haematol.* 1998; 103(2):539-542.

Infante-Rivard C, Krajinovic M, Labuda D, Sinnett D. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Associated with Parental Alcohol Consumption and Polymorphisms of Carcinogen-Metabolizing Genes. *Epidemiology*, 2002;13 (3): 277-281

International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Some Industrial Chemicals and Dyestuffs. Lyon: IARC, 1982, 29.

International Agency for Research on Cancer. 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. [acesso 07 fev 2010]. Disponível em URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/suppl7/Suppl7-24.pdf>.

International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Ionizing Radiation Part 1: X- and Gamma-radiation, and neutrons. Lyon: IARC, 2000:75.

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).

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Brasil). Atlas do Censo Demográfico 2010. IBGE. Rio de Janeiro: IBGE, 2013.

Instituto Nacional do Câncer (Brasil). Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças e Agravos não Transmissíveis. Brasil, 15 capitais e Distrito Federal, 2002-2003. Brasil: Conprev, Instituto Nacional do Câncer, 2004. [acesso 31 mar 2014]. Disponível em URL: <http://www.inca.gov.br/inquerito/docs/consumoalcool.pdf>

Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva (Brasil). A situação de tabagismo no Brasil: dados dos inquéritos do Sistema Internacional de Vigilância, da Organização Mundial de Saúde, realizados no Brasil entre 2002 e 2009. Inca, 2011, 76p.

Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva (Brasil). Coordenação de Prevenção e Vigilância. A situação do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2006. [acesso em 15 mai 2015]. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/situacao/arquivos/causalidade_jovens.pdf

Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva (Brasil). Coordenação de Prevenção e Vigilância. Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional. Rio de Janeiro: INCA, 2010, v.4, 488 p. [acessado em 15 mai 2015]. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/cancernobrasil/2010/>

Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva (Brasil). Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Área de

Vigilância do Câncer relacionado ao Trabalho e ao Ambiente. Diretrizes para a vigilância do câncer relacionado ao trabalho. Rio de Janeiro: INCA, 2012, 187 p. [acessado em 20 mai 2015]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/diretrizes_vigilancia_cancer_trabalho.pdf

Khan I, Malinge S, Crispino J.D. Myeloid Leukemia in Down Syndrome. Crit Rev Oncog. 2011;16(1-2): 25–36.

Kheifets L, Repacholi M, Saunders R, van Deventer E. The sensitivity of Children to Eletromagnetic Fields. Pediatric, 2005;116(2):e303-e313.

Kinlen L. Evidence for an infective cause of childhood leukaemia: comparison of a Scottish new town with nuclear reprocessing sites in Britain. Lancet, 1988; 10(2);(8624):1323-1327.

Kinlen LJ. Epidemiological evidence for an infective basis in childhood leukaemia. Br J Cancer, 1995;71(1):1-5.

Koifman S, Pombo-de-Oliveira MS. High birth weight as an important risk factor for infant leukemia. Br J cancer, 2008; 98(3):664-667.

Koifman S, Wünsch Filho V, Koifman RJ, Lorenzi RL, Ferreira da Silva I, Santos SS. Tumores malignos relacionados com o trabalho. Em: Rene Mendes. (Org.). Patologia do trabalho. 3 ed. São Paulo: Atheneu. 2013.v. 2, p. 917-988.

Kuper H, Boffetta P, Adami H-O. Tobacco use and câncer causation: association by tumor type. *Journal of Internal Medicine*, 2002; 252:206-224.

Kvigne V.L., Randall B., Simanton E. G., Brenneman G., Welty T.K. Blood Alcohol Levels for American Indian Mothers and Newborns. *Pediatrics*. 2012 Oct;130(4):e1015-8. doi: 10.1542/peds.2011-1400.

Labuda D, et al. Parental genotypes in the risk of a complex disease. *Am J Hum Genet*, 2002; 71(1): 193-197.

Lange B. The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with Down's syndrome. *Br J Haematol*. 2000 Sep;110(3):512–524.

Lee, RG et al. Wintrobe Hematologia Clínica. I. Ed. São Paulo: Manole, 1998.

Leveno, K. J. Gary, F. Manual de Obstetrícia de Williams: Complicações na gestação. 23 edição. São Paulo: Artmed, 2014, 706p.

Lieber, C. S., Seitz, H. K., Garro, A. J., and Worner, T. M. 1979. Alcohol-related diseases and carcinogenesis. *Cancer Res*.39:2863–2886.

Lindemann K, Vatten LJ, Ellstrom-Eng M, Eskild A. Body mass, diabetes and smoking, and endometrial cancer risk: a follow-up study. *Br J Cancer*, 2008;98:1582-1585.

Ma X, Metayer C, Does MB, Buffler PA. Maternal pregnancy loss, birth characteristics, and Childhood Leukemia (United States). *Cancer causes and control*, 2005;16:1075-1083.

MacArthur, A. C et al. Risk of childhood leukemia associated with parental smoking and alcohol consumption prior to conception and during pregnancy: the cross-Canada childhood leukemia study. *Cancer Causes Control*, 2008;19:283–295.

Magnani C, Pastore G, Luzzatto L, Terracini B. Parental occupation and other environmental factors in the etiology of leukemias and non-Hodgkin's lymphomas in childhood: a case–control study. *Tumori* 1990;76:413–419.

Martins SLR, Rego EM, Falcão RP. Classificação das Leucemias Agudas: Citologia, Citoquímica e Imunofenotipagem. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. *Hematologia: Fundamentos e Prática*. Ateneu, 2001:433-445.

Meberg A, Sande H, Foss OP, Stenwig JT. Smoking during pregnancy – effects on the fetus and on thiocyanate levels in mother and baby. *Acta Paediatr Scand* 1979; 68: 547–552.

McKinney PA, Fear NT, Stockton D, on behalf of the United Kingdom Childhood Cancer Study Investigators. *Occup Environ Med* 2003;60:901-909.

Melo M, Silveira C. *Leucemias e linfomas: atlas do sangue periférico*. 2ª edição. Rio de Janeiro: Rubio, 2013.

Menegaux F, Ripert M, Hémon D, Clavel J. Maternal alcohol and coffee drinking, parental smoking and childhood leukemia: a French population-based case control study. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 2007; 21(4):293-299.

Menegaux F, Bellec S, Baruchel A, Lescouer B, Leverger G, Nelken B, Philippe N, Sommelet N, Hémon D, Clavel J. Maternal Coffee and alcohol consumption during pregnancy, parental smoke and childhood acute leukemia. *Cancer Detection and Prevention*, 2005; 29(6):487-493.

Metayer C, Milne E, Clavel J, Infante-Rivard C, Petridou E, Taylor M, Schüz J, Spector LG, Dockerty JD, Magnani C, Pombo-de-Oliveira MS, Sinnott D, Murphy M, Roman E, Monge P, Ezzat S, Mueller BA, Scheurer ME, Armstrong BK, Birch J, Kaatsch P, Koifman S, Lightfoot T, Bhatti P, Bondy ML, Rudant J, O'Neill K, Miligi L, Dessypris N, Kang AY, Buffler PA. The Childhood Leukemia International Consortium. *Cancer Epidemiol*. 2013 Jun;37(3):336-47. Metcalf D. (2007). On Hematopoietic Stem Cell Fate. *Immunity*, 26.

Milne, E. et al. Parental prenatal smoking and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Am J Epidemiol*, 2012; Jan 175(1):43-53.

Ministério da Saúde (Brasil). Portaria Federal nº 1.339/GM-MS, de 18 de novembro de 1999. [acesso 16 set 2013]. Disponível em URL: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port99/GM/GM-1339.html>

Mufti, S. I., Darban, H. R., and Watson, R. R. Alcohol, cancer, and immunomodulation. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1989;9:243–261.

Naoum PC. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2001;23(2):15-23.

Nicolov IG, Chernozemsky IN. Tumors and hyperplastic lesions in Syrian hamsters following transplacental and neonatal treatment with cigarette smoke condensate. *J Cancer Res Clin Oncol* 1979; 94: 249–256.

Obe, G., and Ristow, H. Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol. *Mutat. Res.* 1979;65:229–259.

Pelissari DM, Barbieri FE, Filho VW. Magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children: a systematic review of case-control studies. *Cad. Saúde Pública*, 2009; 25 Sup 3:S441-S452.

Pereira FP. Molecular Epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment and prevention. J Nat Cancer Inst, 1996; 17; 88(8): 496-509.

Petridou E, Trichopoulos D, Kalapothaki V, *et al.* The risk profile of childhood leukaemia in Greece: a nationwide case-control study. Br J Cancer 1997; 76:1241-1247.

Pombo-de Oliveira MS, *et al.* Lymphoblastic leukemia in Siamese Twins: evidence for identity. Lancet, 1986; 2(8513):969-70.

Pombo-de-Oliveira MS, Koifman S. Infant Acute Leukemia and maternal exposures during pregnancy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006; 15(12):2336-2341.

Pombo-de-Oliveira MS, *et al.* Leucemias infantis: abordagem imuno-molecular no diagnóstico e nas pesquisas. Instituto Nacional do Cancer: Ministério da Saúde, 2008.

Poole C, Greenland S, Luetters C, Kelsey JL, Mezei G. Socioeconomic status and childhood leukaemia: a review. Int J Epidemiol. 2006 Apr;35(2):370-84. Epub 2005 Nov 24.

Pui, C.-H. and Relling, M. V. Topoisomerase II Inhibitor-related Acute Myeloid Leukaemia. British Journal of Haematology, 2000;109: 13–23.

Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2004; 350:1535-48.

Reis RS, Santos MO, Thuler LCS. Incidência de tumores pediátricos no Brasil. *Rev Bras de Cancerologia*, 2007; 53(1):5-15.

Rothman N, Smith MT, Hayes RB, *et al*. Benzene Poisoning, a Risk Factor of Hematological Malignancy, is associated with *NQO1* ⁶⁰⁹C→T Mutation and Rapid Fractional Excretion of Chlorozoxazone. *Cancer Res*, 1997;57:2839-2842.

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.*, 2007;115(12):1787-1793,.

Schüz J, Kaatsch P, Kaletsch U, *et al*. Association of childhood cancer with factors related to pregnancy and birth. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 631-9.

Surveillance Epidemiology and End Results (SEER). [acesso 10 mai 2013]. Disponível em URL: <http://www.seer.cancer.gov/>

Severson RK, Buckley JD, Woods WG, Benjamin D, Robison LL. Cigarette smoking and alcohol consumption by parents of children with acute myeloid leukemia: an

analysis within morphological subgroups - a report from the Children's Cancer Group. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1993; 2: 433-439.

Shu XO, Ross JA, Pendergrass TW, Reaman GH, Lampkin B, Robison LL. Parental Alcohol Consumption, Cigarette Smoking, and Risk of Infant Leukemia: a Childrens Cancer Group Study. *Journal of National Cancer Institute* 1996; 88: 24-31.

Slater, M. E., Linabery, A. M., Blair, C. K., Spector, L. G., Heerema, N. A., Robison, L. L. and Ross, J. A. Maternal prenatal cigarette, alcohol and illicit drug use and risk of infant leukaemia: a report from the Children's Oncology Group. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 2011; 25: 559–565.

Stiller C. Incidence of Childhood Leukemia: Standardized incidence rate of leukaemia as defined by ICD-10 codes C90-95 in children age 0 to 14 years. World Health Organization, 2009. [acesso 10 mai 2013]. Disponível em URL: www.euro.who.int/ENHIS.

Tedesco, ILA. A grávida: suas indagações e as dúvidas do obstetra. Rio de Janeiro: Atheneu, 2000.

Wen W, Sho XO, Potter JD, Severson RK, Buckley JD, Reaman GH, Robison LL. Parental medication use and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 2002;95(8):1786-1794.

Wintrobe, MM. Clinical Hematology. 5th ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1961.

Wiemels, J. Perspectives on the causes of childhood leukemia. *Chemico-Biological Interactions*, 2012; 196: 59-67.

World Health Organization. National cancer control programs: policies and managerial guidelines. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; c2002. 180 p. [acesso em 03 dez 2014]. Disponível em URL: <http://www.who.int/cancer/media/en/408.pdf>

WHO. Global Information System on Alcohol and Health (GISAH). World Health Organization, 2010. [acesso 31 mar 2014]. Disponível em URL: http://gamapserver.who.int/gho/static_graphs/gisah/Global_adult_percapita_consumption_2005.png?ua=1

Yuspa ST, Harris CC. Molecular and cellular basis of chemical carcinogenesis. In: Schottenfeld D. Fraumeni Jr. JF. *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia: W.B. Saunders, pp. 23-43, 1982.

9- ANEXOS