

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

Adalberto Luiz Miranda Filho

**Pesticidas, câncer de cérebro e neoplasias hematológicas na região Serrana do Rio de Janeiro**

Rio de Janeiro

2016

Adalberto Luiz Miranda Filho

**Pesticidas, câncer de cérebro e neoplasias hematológicas na região Serrana do Rio de Janeiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Gina Torres Rego Monteiro

Rio de Janeiro

2016

Catálogo na fonte  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica  
Biblioteca de Saúde Pública

M672p Miranda Filho, Adalberto Luiz.  
Pesticidas, câncer de cérebro e neoplasias  
hematológicas na região Serrana do Rio de Janeiro. /  
Adalberto Luiz Miranda Filho. -- 2016.  
96 f. : ilust.; tab.; graf.  
Orientadora: Gina Torres Rego Monteiro  
Dissertação (doutor) – Escola Nacional de Saúde  
Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2016.  
1. Pesticidas – toxicidade. 2. Neoplasias Encefálicas  
- epidemiologia. 2. Neoplasias Hematológicas -  
epidemiologia. 3. Exposição Ambiental. 4. Estudos de  
Casos e Controles. 5. Saúde da População Rural. I. Título.  
CDD - 22.ed. – 616.99418098153

Adalberto Luiz Miranda Filho

**Pesticidas, câncer de cérebro e neoplasias hematológicas na região Serrana do Rio de Janeiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em: 23 de maio de 2016

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Fernando Martins Carvalho  
Universidade Federal da Bahia

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Gulnar de Azevedo Silva  
Universidade Estadual do Rio de Janeiro - Instituto de Medicina Social

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Rosalina Jorge Koifman  
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Ilce Ferreira da Silva  
Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Fernandes Figueiras

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Gina Torres Rego Monteiro (orientadora)  
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Rio de Janeiro

2016

## AGRADECIMENTOS

Durante o longo período de dedicação ao doutorado, muitas pessoas fizeram parte da construção deste trabalho, e com muita satisfação gostaria de agradecê-las. Primeiramente a Deus, que me concedeu saúde e determinação para acreditar que este trabalho fosse possível e à minha família que sempre me apoiou a seguir em frente. Ao professor Sergio Koifman, em memória, é imensa a minha gratidão por todos os anos de intenso aprendizado e trabalho em sua companhia. À minha orientadora, com sua calma e paciência, sempre presente nos momentos de dificuldades. Também à professora Rosalina Koifman por todo apoio e confiança em todos esses anos.

Um agradecimento especial para todos aqueles que diretamente e indiretamente fizeram parte desta pesquisa. Ao Centro de Tratamento em Oncologia, ao Hospital Alcides Carneiro e à Faculdade de Medicina de Petrópolis que gentilmente foram nossos parceiros nessa difícil tarefa. Também agradeço a todos os alunos de iniciação científica que realizaram seu trabalho com muita dedicação.

Não posso deixar de lembrar e agradecer com um carinho especial a todos os pacientes, que diante de um momento difícil de suas vidas puderam contribuir para a existência desta pesquisa.

Finalmente agradeço a CAPES, FAPERJ e CNPq pelas bolsas de estudo concedidas ao longo do doutorado.

## RESUMO

**Introdução:** O impacto do câncer na população mundial continua aumentando, em parte, pelas exposições ambientais. Sabe-se que indivíduos com ocupações agrícolas, assim como não agricultores que residem em comunidades rurais, apresentam maiores taxas de mortalidade para algumas neoplasias específicas, dentre elas câncer de cérebro, e neoplasias hematológicas. Uma das hipóteses apontadas na literatura refere-se às condições ambientais vivenciadas por esse grupo populacional como, por exemplo, as exposições aos pesticidas e a agentes biológicos. No estado do Rio de Janeiro, a região Serrana é o principal polo agrícola, sendo que os agricultores representam o grupo de maior exposição aos pesticidas. Assim, é de grande importância descrever o perfil epidemiológico das neoplasias nessa região. **Métodos:** Esta tese foi dividida em três partes, sendo que na primeira delas foi analisado o padrão geográfico e temporal da mortalidade por câncer de cérebro na região Serrana e na Metropolitana do Rio de Janeiro. Para este estudo foram estimados modelos de regressão de Poisson e de idade-período-coorte. A segunda parte foi um caso-controle de mortalidade de base populacional que investigou a associação entre a ocupação agricultor e a mortalidade por leucemias no estado do Rio de Janeiro, para tal foi estimado a odds ratio a partir de modelo de regressão logística com seus respectivos intervalos de confiança. A última parte apresenta os resultados preliminares de um estudo caso-controle de casos incidentes de base hospitalar em andamento na região Serrana do Rio de Janeiro, que investiga a associação entre exposições a pesticidas e neoplasias hematológicas, assim como câncer de cérebro. Os casos e controles estão sendo recrutados na cidade de Petrópolis. Foram estimados modelos de regressão logística (OR) bruta e ajustada, com intervalo de confiança de 95%. **Resultados:** No primeiro estudo foi observada uma maior magnitude e tendência crescente na mortalidade por câncer de cérebro na região Serrana 4,2% IC95%: 0,4-8,1. Por sua vez, a tendência na região metropolitana foi de estabilidade, no mesmo período de estudo: -0,5% IC95%: -1,8-0,9. O efeito coorte observado na região Serrana, sugere que as coortes mais recentes apresentaram um risco maior de mortalidade RR 4,0. O segundo trabalho revelou uma associação positiva entre a ocupação agricultor e o óbito por leucemia mielóide com razão de chance de 1,69 IC95% 1,10-2,86; por sua vez para leucemia linfóide a OR foi de 0.87 IC95% 0,34-2,20. Quando se estimou a *Mortality Odds Ratio* entre a venda per capita de pesticidas e a mortalidade por leucemias mieloide, se observou que aqueles municípios de maior venda em 1996 apresentaram elevada MOR 1,91 IC95%: 0,88-4,03. **Conclusão:** A região Serrana do Rio de Janeiro apresentou taxas crescentes de mortalidade por câncer de cérebro quando o efeito coorte observado nessa região sugere uma mudança no padrão de exposições ambientais pela qual as novas gerações estariam expostas. Também foi possível concluir que os agricultores apresentaram elevada razão de chance para a mortalidade por leucemias.

Palavras chave: Câncer de cérebro. Neoplasia hematológica. Exposição a pesticida. Epidemiologia. Estudo caso-controle.

## ABSTRACT

**Background:** The impact of cancer has increased in the world population, in part due to environmental exposures. It has been observed farmers, as well as those who live in rural regions, have higher mortality rates for some specific kind of cancer in relation to those who live in urban regions, namely, brain cancer and hematological neoplasm. One hypothesis mentioned in the literature refers to the environmental conditions experienced by this population group such as, for instance, exposure to pesticides and biological agents. In Rio de Janeiro State, Serrana region is the major agricultural hub and it has showed that farmers have higher exposure to pesticides in this region. Therefore, it is important to estimate the impact of cancer in this region. **Methods:** This thesis was divided into three studies; the first one has described geographical and temporal patterns of brain cancer mortality in Serrana region (agricultural region) and Metropolitan region, both from Rio de Janeiro. A Poisson regression and age-period-cohort analyses was performed. The second study was a population-based mortality case-control aimed estimates the association between farmers and death due to leukemia, by unconditional logistic regression and its 95% confidence interval. Finally, the third study is a hospital-based incidence case-control study in progress in Serrana Region from Rio de Janeiro that aims estimate the association between exposure to pesticides and hematological malignancies, as well as cancer brain. The cases and controls are being recruited in the city of Petropolis. Unconditional logistic regression adjusted and its 95% confidence interval was performed. **Results:** The first study, a greater magnitude and increased trend in brain cancer mortality was observed in Serrana region 4.2% 95% CI: 2.9-3.5. On the other hand, mortality trends has stabled in Metropolitan region in the same period: -0.5% 95%CI: -1.8-0,9. The cohort effect observed in the Serrana region suggests the most recent cohort had a higher risk of mortality RR 4.0. The second study showed a positive association between the farmer occupation and death due to myeloid leukemia in relation to non-farmers OR 1.69 95%CI: 1.10-2.86; on the other hand, leukemia lymphoblastic OR was 0.87 95% CI 0.34-2.20. In addition, those cities in higher per capita expenditure of pesticides had higher Mortality Odds Ratio MOR: 1.91 95%CI 0.88-4.03. **Conclusion:** It was observed an increased in brain cancer mortality in an agricultural region (Serrana region), suggests changes in the pattern of environmental exposures over new generations. In the same way, farmers showed a positive association with death due to myeloid leukemia

**Keywords:** Brain cancer. Hematological neoplasm. Exposure to pesticide. Epidemiology. Case-control study.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	10
2.1. Pesticidas .....	10
2.2. Principais pesticidas de acordo com seu grupo químico .....	11
2.2.1. <i>Organoclorados</i> .....	12
2.2.2. <i>Organofosforados</i> .....	13
2.2.3. <i>Carbamatos</i> .....	15
2.2.4. <i>Exposição crônica aos pesticidas organofosforados e carbamatos</i> .....	15
2.3. Mecanismos de carcinogênese .....	17
2.3.1. <i>Polimorfismo em genes metabolizadores de pesticidas</i> .....	18
2.4. Epidemiologia do câncer de cérebro e neoplasias hematológicas .....	20
2.4.1. <i>Neoplasias malignas encefálicas</i> .....	21
2.4.2. <i>Neoplasias hematológicas</i> .....	25
2.4.2.1. <i>Leucemias</i> .....	25
2.4.2.2. <i>Linfomas</i> .....	28
2.5. Agricultura no estado do Rio de Janeiro .....	32
3. JUSTIFICATIVA .....	34
4. OBJETIVOS .....	35
4.1. Geral .....	35
4.2. Específicos .....	35
5. SUJEITOS E MÉTODOS.....	36
6. ARTIGO 1 .....	37
7. ARTIGO 2: .....	56
8. EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS E NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS: resultados preliminares de um estudo caso-controle de base hospitalar .....	78
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84
REFERÊNCIAS.....	86
ANEXO .....	96



## 1. INTRODUÇÃO

O uso de substâncias na agricultura não é recente, há relatos da utilização de inseticidas pelos sumérios, há cerca de 4500 anos. Já os chineses, no século XV, usavam substâncias com base no mercúrio e arsênico para o controle de insetos em jardins (IARC, 1991). A partir dos anos de 1830, o mundo iniciava a revolução da química orgânica moderna, onde diversos experimentos envolvendo o alcatrão de carvão como produto sub industrial traçariam os caminhos e o estabelecimento de uma indústria de corantes e posteriormente a sintetização de produtos químicos capazes de matar insetos (JARMAN; BALLSCHMITER, 2012). A sintetização química do alcatrão de carvão desempenhou um papel significativo na história do primeiro inseticida moderno, largamente usado em todo o mundo depois da segunda guerra mundial, o diclorodifeniltricloroetano (DDT), e condenado posteriormente pelo movimento ambiental que foi resumido por de Rachel Carson em sua obra chamada *Silent Spring*, que demonstrou o impacto dos pesticidas Organoclorados (OC) tinham em todo o ecossistema (CARSON, 2002).

Desde o declínio do uso das substâncias OC, a indústria química tem desenvolvido centenas de novos princípios ativos para a produção de outros pesticidas, como por exemplo, Organoclorados, Carbamatos, Piretróides, dentre outros, amplamente usados nos dias atuais (KARASALI; MARAGOU, 2016). Embora já se saiba bastante sobre os efeitos agudos destes pesticidas modernos citados acima, pouco se sabe sobre seus efeitos crônicos e também sobre seus efeitos sinérgicos (ALAVANJA; BONNER, 2012). Desde então identificar os efeitos crônicos dos pesticidas tem sido o principal desafio no campo da Epidemiologia ambiental. Estudos em animais, em células e epidemiológicos têm apontado que diversos pesticidas possuem efeito no sistema nervoso central, no sistema respiratório, no sistema reprodutivo, podem atuar como desreguladores endócrinos e, principalmente, são suspeitos de causarem câncer em humanos (GEORGE; SHUKLA, 2011).

Na década de 1970, surgiram os primeiros estudos epidemiológicos que apontavam uma possível associação entre a exposição ocupacional a pesticidas e câncer (KELLERBYRNE; KHUDER; SCHAUB, 1995; ACQUAVELLA et al., 1998; VAN MAELE-FABRY; DUHAYON; LISON, 2007; BLAIR; FREEMAN, 2009), sendo que, no ano de 1993, a International Agency for Research on Cancer (IARC) classificou a exposição ocupacional a pesticidas como provável carcinógeno humano. Em 2015, uma

nova monografia revisou a carcinogenicidade de alguns pesticidas organofosforados (OF). Os pesticidas Tetraclorvinphos e Parathion foram classificados como possível carcinógeno humano (Grupo 2B); por sua vez os pesticidas Diazinon, Glyphosate, e Malation foram classificados como provável carcinógeno humano (Grupo 2A) (GUYTON et al., 2015).

No entanto, muito ainda há por se conhecer sobre o real papel dos pesticidas na carcinogênese. Embora o número de estudos tenha aumentado nas últimas décadas, várias lacunas ainda estão por ser analisadas, principalmente nos países em desenvolvimento e de intensa atividade agrícola. O Brasil é o maior país consumidor de agrotóxicos do mundo (SCHREINEMACHERS; TIPRAQSA, 2012). Atualmente, 89 princípios ativos possuem autorização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para sua comercialização. Esses princípios estão na fórmula de 1090 substâncias, sendo 180 caracterizadas como extremamente tóxicas (classe I) e 248 como tóxicas (classe II) (ANVISA, 2010). Mesmo assim, estudos sobre os impactos dessas substâncias na população brasileira são escassos. Portanto, é de extrema importância a elaboração de estudos que abordem a problemática a luz da realidade brasileira.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Pesticidas

Entende-se como pesticida um grupo de substâncias de uso urbano e agrícola. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA, 2010) denomina pesticida como qualquer substância, ou mistura de substâncias, destinada a prevenir, destruir, repelir ou mitigar qualquer praga. Entende-se por pragas organismos que ocorrem de maneira indesejada ao homem no meio urbano ou na produção de alimentos (ref.).

No Brasil, a Lei Federal nº 7.802 de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo decreto Federal nº 4.074 de 4 de janeiro de 2002, define o que é um agrotóxico (BRASIL, 1989). De acordo com essa lei, pode-se usar a palavra agrotóxicos como sinônimo de pesticidas, deste modo pode defini-los como:

*... a) os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; b) substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento... (Brasil, 1989).*

Os humanos podem estar expostos a essas substâncias de diversas formas. A principal delas é relacionada ao ambiente de trabalho, onde se destacam: trabalhadores da agricultura e pecuária; aplicadores urbanos e de campanhas de saúde pública e os trabalhadores da indústria (produção e transporte de pesticidas). A principal forma de exposição da população geral (que não trabalha diretamente com agrotóxicos) é a alimentação e, principalmente, as aplicações domésticas e campanhas de saúde pública (PERES; MOREIRA, 2003).

No ambiente rural, a exposição aos pesticidas pode ocorrer de diversas formas: no preparo, na mistura e na aplicação dos agrotóxicos nas lavouras; na lavagem das roupas usadas no ambiente de trabalho; no armazenamento dos agrotóxicos; no descarte das embalagens de agrotóxicos e na poeira oriunda da lavoura. Deste modo a exposição

ocupacional pode acarretar a exposição indireta de toda a família do agricultor (CURWIN et al., 2007; RIBEIRO et al., 2012)

No meio urbano, a exposição aos pesticidas se dá pelas aplicações em residências (controle de baratas, mosquitos, ratos etc.), campanhas de saúde pública (dengue, caramujos etc.) e pela ingestão de resíduos de pesticidas na alimentação (LIMA et al., 2009; JARDIM; CALDAS, 2012).

Para fins de saúde pública, outros tipos de organismos também são combatidos pelos pesticidas como, por exemplo, raticidas (controle de ratos), acaricidas (controle de ácaros), nematocidas (controle de nematoides) e moluscocidas (controle de moluscos). Vale ressaltar que um pesticida pode ser destinado a organismos diferentes, por exemplo, o paration é usado como inseticida e como herbicida.

## **2.2. Principais pesticidas de acordo com seu grupo químico**

Os pesticidas podem ser agrupados de acordo com seu grupo químico ou sua permanência nos organismos. No primeiro grupo, estão os organoclorados (OC), que têm características de bioacumulação e biomagnificação, e possuem uma meia vida longa na maioria dos mamíferos (CARSON, 2002). Por outro lado, organofosforados, carbamatos, piretróides são considerados como não persistentes, sendo metabolizados e excretados pelos seres humanos em poucos dias (BARR et al., 2010).

Pode-se classificar os pesticidas de diversas maneiras, de acordo com seu grupo químico ou a partir do seu modo de ação. Uma forma bastante comum de classificar tais substâncias é com relação ao organismo que se deseja controlar (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação dos pesticidas de acordo com o organismo que se destina, em relação ao grupo químico e ingrediente ativo.

<b>Organismo que se destina</b>	<b>Grupo químico</b>	<b>Ingrediente ativo</b>
Inseticidas (combate de insetos, larvas e formigas no meio rural e urbano)	Organoclorados	DDT, Aldrin, Endrin, Endosulfan
	Organofosforados	Metamidofós, Acefato, Clorpirifós, fenitrotiona
	Carbofuranos	Metilcarbamato de benzofuranila,
	Piretróides	Cipermetrina, deltametrina, permetrina
Fungicidas (combate de fungos)	Ditiocarbamatos	Maconzeb, Maneb, Ziran, Metiran
	Captan	Orthocide e Merpan
Herbicidas (combate a ervas daninhas em plantações e em gramas)	Triazina	Atrazina, Metribuzina
	Glicinas	Glifosato, 2,4,D
	Bbipiridílios	Paraquat, Gramoxone, Gramocil
	Pentaclorofenol; Derivados do Ácido Fenóxiacético	2,3 diclorofenoxiacético (Tordon 2,4 D) e 2,4,5 triclorofenoxiacético (2,4,5 T)

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

Para fins de saúde pública outros tipos de organismos também são combatidos pelos pesticidas, por exemplo, raticidas (controle de ratos); acaricidas (controle de ácaros); nematocidas (controle de nematoides); moluscocidas (controle de moluscos). Vale ressaltar que um pesticida pode ser destinado a organismos diferentes, por exemplo, o paration é usado como inseticida e como herbicida.

### 2.2.1. Organoclorados

Pesticidas organoclorados (OC) são compostos que contêm carbono e cloro, possuem alta estabilidade, não se degradam facilmente no ambiente e têm a capacidade de se bioacumular nos organismos. Alguns são altamente tóxicos, como é o caso do DDT, cujo uso tem sido banido ao redor do mundo, sendo, no entanto, permitido em alguns países para o controle de malária (JARMAN; BALLSCHMITER, 2012). No ano de 2001, na conferência de Estocolmo, 173 países ratificaram um tratado pelo banimento de nove

pesticidas organoclorados e seus congêneres: aldrin, clordano, p, p0-DDT, dieldrin, endrin, heptacloro, hexaclorobenzeno, mirex e toxafeno (XU; WANG; CAI, 2013). No Brasil, seu uso e comercialização foram proibidos em 1985, mas continuou sendo utilizado em campanhas de saúde públicas até o ano de 1998 (ANVISA, 2010)

Alguns OC são metabolizados mais facilmente que outros e excretados na urina, sendo os mais comuns o endosulfan e o lidano. Os níveis de OC são mais elevados em populações com exposições continuadas (dieta e ocupacional). Seus níveis em populações humanas variam de acordo com a localização geográfica pois os OC foram banidos nos países em diferentes momentos, enquanto na África o seu uso permanece para o controle da malária (WALKER; RICCIARDONE; JENSEN, 2003). É possível, ainda, encontrar níveis dessas substâncias mesmo em populações que nasceram após a sua proibição e em ambientes sem atividade humana, principalmente porque essas substâncias são capazes de ser absorvidas pelos organismos e transportadas pelos compartimentos ambientais (ALAVA et al., 2011).

### 2.2.2. *Organofosforados*

Pesticidas organofosforados (OF) correspondem a um grupo de substâncias que possuem ligações entre carbono e fósforo (POPE, 1999). São usados principalmente para o controle de pragas na agricultura, em saúde pública e em aplicações domésticas. Seu uso foi disseminado em todo o mundo a partir da década de 1970 devido à proibição das substâncias organocloradas. A intoxicação por estes agentes, principalmente em países desenvolvidos, é um problema de saúde pública (EDDLESTON et al., 2002). Organofosforados podem ser inseticidas, herbicidas, acaricidas, nematicidas e fungicidas. No ambiente, a meia vida é curta, cerca de poucos dias, e seus efeitos afetam tanto humanos como toda a fauna exposta.

Tais pesticidas apresentam propriedades inseticidas eficazes e possuem o mesmo mecanismo de ação nos insetos e em humanos (ROBERTS; AARON, 2007). A toxicocinética e toxicodinâmica das substâncias organofosforadas podem variar de acordo com a via de exposição e a estrutura química do composto. O principal mecanismo de toxicidade é a inibição da acetilcolinesterase, que resulta numa acumulação do neurotransmissor acetilcolina e a estimulação contínua em seus receptores (KWONG, 2002).

Os seres humanos são expostos aos pesticidas por diversos caminhos, sendo os

principais, o contato dérmico, a ingestão e o contato por via respiratória (MARGNI et al., 2002). Do ponto de vista ocupacional, o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) pode diminuir o contato dérmico e respiratório aos pesticidas. O trabalhador também se encontra exposto ao preparar ou misturar os pesticidas e ao final da aplicação quando é realizada a limpeza do equipamento (PEDLOWSKI et al., 2012).

Após entrar em contato com o organismo, o pesticida OF rapidamente entra em contato com o sistema sanguíneo e é distribuído para ser metabolizado e biotransformado antes de ser excretado (SINHASENI; SAMATIWAT, 1998). A metabolização dos OF ocorre no fígado através de enzimas do citocromo P450 e a sua excreção ocorre principalmente pelas fezes e urina (ROSE et al., 2005). A principal toxicidade dos OF é no sistema nervoso central, sendo que o seu principal mecanismo é a inibição enzimática da Acetilcolinesterase (AChE), que leva ao acúmulo da acetilcolina (ACh) nas terminações nervosas (LÓPEZ-CARILLO; LÓPEZ-CERVANTES, 1993).

Após ocorrer a exposição aos OF, a AChE é inibida gerando um acúmulo da ACh na fenda sináptica, causando a hiperestimulação colinérgica. A partir de então, é possível observar os sinais e sintomas provocados pela estimulação, que variam de acordo com o nível de exposição (LESSENGER, 2005). A inibição da ACh não é permanente e a maioria dos OF possuem meia-vida de até 48 horas após a exposição. No entanto, podem causar sintomas graves e levar ao óbito (CHOWDHARY; BHATTACHARYYA; BANERJEE, 2014). O quadro de intoxicação aguda por pesticidas OF requer intervenção clínica (JOKANOVIĆ, 2009). Dentre os principais efeitos pode-se destacar os muscarínicos e os nicotínicos. No início, ocorre uma estimulação colinérgica, seguida de depressão das transmissões e paralisia completa das terminações nervosas (LESSENGER; REESE, 1999). Os sinais e sintomas aparecem depois de alguns minutos após a exposição: salivação, miofasciculações, sudorese e miose, ansiedade, fraqueza, tremores, taquicardia e vômitos. Indivíduos expostos a altas doses de OF podem evoluir para um quadro mais grave e apresentar, insuficiência respiratória, dispneia, bradicardia, cólicas, diarreia, hipotermia e coma (JOKANOVIĆ; KOSANOVIĆ, 2010).

### 2.2.3. *Carbamatos*

Os pesticidas carbamatos são compostos à base de ácido carbônico  $\text{HOC(O)NH}_2$ . Na atualidade, seu uso se dá na agricultura, principalmente como fungicida e inseticida, com variação na toxicidade e modo de ação. Como são componentes pouco estáveis, sua meia vida no ambiente é baixa, de semanas ou meses.

O modo de ação dos pesticidas carbamatos é similar aos organofosforados, que exerce ação de inibição da colinesterase e tendo como principal sítio de ação o sistema nervoso central (DE BLEECKER, 2008; RAGOUCY-SEGLER et al., 2000). Os efeitos reversos dos carbamatos podem ser mensurados pelos níveis de colinesterase sanguínea. Assim como os OF, as principais vias de exposição são oral, dérmica e respiratória. Assim, após o contato (de humanos ou mesmo de outros mamíferos), o carbamato é rapidamente metabolizado, em geral com meia vida de até 48 horas (RISHER; MINK; STARA, 1987). Exposições a altos níveis de carbamatos podem provocar um quadro grave de intoxicação e levar ao óbito. Em geral, os sinais e sintomas são dor de cabeça, tonturas, fraqueza, salivação excessiva, náusea, vômito, dentre outros, e são indicadores do nível de exposição. Sintomas mais severos incluem, dor abdominal, descoordenação motora, fasciculização muscular, dificuldades respiratórias, mudanças no padrão de pulso (KING; AARON, 2015).

### 2.2.4. *Exposição crônica aos pesticidas organofosforados e carbamatos*

A exposição crônica, principalmente a baixas doses de pesticidas, tem sido descrita como fator de risco para diversas doenças crônicas (ALAVANJA; HOPPIN; KAMEL, 2004). Os pesticidas organofosforados e carbamatos possuem um mecanismo de toxicidade crônico bem similar, e são suspeitos de causar diversas doenças em humanos: doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer (BURNS et al., 2013); doenças cardiovasculares, como hipertensão e arteriosclerose (LANG et al., 1997); doenças respiratórias, como asma e DPOC (MAMANE et al., 2015); anomalias congênitas; efeitos no sistema reprodutivo; diabetes; doença renal crônica e doenças autoimunes (Figura 1) (MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013).



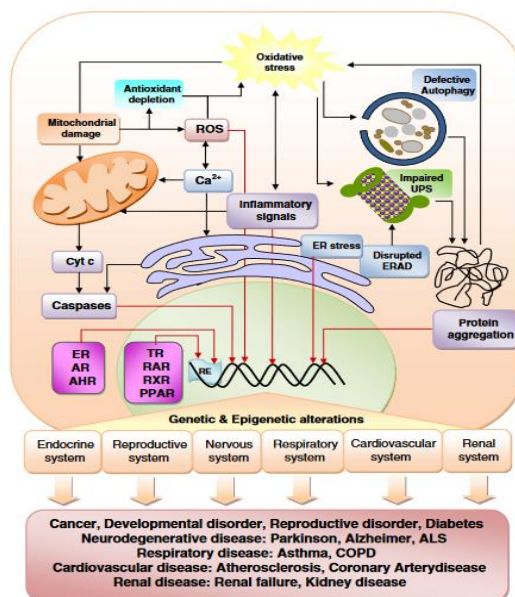


Figura 1. Modo de ação e efeitos crônicos induzidos por pesticidas. Fonte: (MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013).

A Figura 1 apresenta um modelo simplificado do modo pelo qual os pesticidas induzem e desenvolvem doenças crônicas. Populações expostas de forma ocupacional aos pesticidas revelam uma série de mecanismos moleculares que podem estar relacionados com doenças crônicas (COSTA, 2006). Tais mecanismos são complexos uma vez que as doenças crônicas se desenvolvem em estágios e podem levar muitos anos para se estabelecerem (MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013).

A genotoxicidade é um dos principais mecanismos pela qual os pesticidas causam doenças. A interação de um pesticida com o DNA pode causar danos genéticos (BOLOGNESI, 2003). Dentre os principais danos, a quebra cromossômica, formação de adutos assim como a inserção ou deleção de genes são os principais causadores de mutações (SMITH et al., 2015). Do mesmo modo, a indução de mudanças epigenéticas, que se referem a alterações hereditárias na expressão gênica que ocorrem sem mudança na sequência do DNA. Tais mudanças têm sido relacionadas com o desenvolvimento de doenças. Os fenômenos epigenéticos incluem mudanças no padrão de metilação do DNA e danos na estrutura da cromatina (COLLOTTA; BERTAZZI; BOLLATI, 2013).

A indução de estresse oxidativo tem sido sistematicamente ligada às doenças crônicas, como as neurodegenerativas, diabetes, cardiovasculares e câncer (BAYNES; THORPE, 1999; LAMBETH, 2007). O aumento ou a diminuição na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), ou seja, qualquer alteração no balanço redox, pode gerar um dano nos componentes celulares, lipídios, proteínas e DNA (ABDOLLAHI et al., 2004). Conseqüentemente o estresse oxidativo pode desregular diversos mensageiros na

sinalização celular e alterar o padrão de resposta inflamatória e também da organização das organelas. Além do mais, alterações provocadas por pesticidas nas mitocôndrias, que são a principal fonte de energia (ATP) podem também induzir ao estresse oxidativo (ABDOLLAHI et al., 2004; SLANINOVA et al., 2009).

Outro mecanismo de alteração celular causado por pesticidas e associados a doenças é a sua capacidade de desregulação do sistema endócrino, que se refere ao mecanismo de toxicidade que interfere na capacidade de células se comunicarem por hormônios (MNIF et al., 2011). A desregulação do sistema endócrino causada por alguns pesticidas resulta em uma variedade de problemas na saúde humana, que incluem malformações congênitas, efeitos no sistema reprodutivo e no desenvolvimento fetal, sistema imune e no metabolismo de hormônios (KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015). Efeitos androgênicos, anti-androgênicos e inibidores de tireoide foram observados após exposição a pesticidas (GOLDNER et al., 2013).

### **2.3. Mecanismos de carcinogênese**

Os agrotóxicos podem agir como iniciadores ou como promotores de câncer em mamíferos. A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) reuniu um conjunto de informações toxicológicas sobre a carcinogenicidade de vários agrotóxicos e avaliou os estudos publicados até 1991 em relação a 18 daqueles utilizados na agricultura. Foram encontradas evidências suficientes de carcinogenicidade em nove deles e evidências limitadas nos outros nove (IARC, 1991). Também o *National Toxicology Program* (NTP) reuniu estudos que avaliaram carcinogenicidade em animais de 47 agrotóxicos e encontrou evidências positivas em 23 deles (NTP, 2000).

Diversos mecanismos de ação têm sido propostos para demonstrar o potencial carcinogênico dos pesticidas (GEORGE; SHUKLA, 2011). Os OF podem ser carcinógenos principalmente por *estresse oxidativo* que tem como causa distúrbios no metabolismo celular, produzindo danos na estrutura de proteínas e no DNA (HERNÁNDEZ et al., 2013b). Alguns compostos de carbamatos contêm etilenotiureia (ETU) (Maneb, Ziram, Maconzeb) que tem a capacidade de desenvolver tumores de tireoide. Outros carbamatos são capazes de produzir compostos N-nitrosos, quando metabolizados, como é o caso do Carbaryl e do Maconzeb, estes compostos são associados com diversos tipos de câncer. O principal mecanismo de ação dos carbamatos é a sua capacidade de interagir com o sistema endócrino, evidências apontam também um possível papel do estresse oxidativo e da capacidade destas substâncias reagirem com o

DNA (BELPOGGI et al., 2002; CALVIELLO et al., 2006; GEORGE; SHUKLA, 2011).

### *2.3.1. Polimorfismo em genes metabolizadores de pesticidas*

O metabolismo de pesticidas envolve basicamente duas fases, com o objetivo de remover tais substâncias químicas do organismo através de enzimas específicas. As principais enzimas envolvidas na fase I são os citocromos da família P450 (CYP450), responsáveis pela transformação dessas substâncias em metabólitos intermediários eletrofílicos. Já na fase II, esses metabólitos são catalisados por enzimas de conjugação, como: Paraoxonase (PON), glutathione S-transferase (GST), UDP-glicuroniltransferase, N-acetiltransferase (NAT), Sulfotransferases (SULT), dentre outras, que são responsáveis pela ativação ou inativação, transformando em substâncias mais hidrofílicas, facilitando assim sua excreção (AUTRUP, 2000; RAUNIO et al., 1995).

A identificação de polimorfismos em genes envolvidos na metabolização de carcinógenos e no reparo do DNA sugere a existência de diferentes padrões de suscetibilidade aos efeitos dessas substâncias, configurando possíveis grupos específicos de maior risco de desenvolvimento de doenças como câncer (ANDROUTSOPOULOS; KANAVOURAS; TSATSAKIS, 2011; CHEN et al., 2010; DIANAT et al., 2009; REBBECK, 1997). A Paraoxonase (PON) é formada por um grupo de proteínas (PON1, PON2 e PON3) localizadas no cromossomo humano 7(q21.22). Esta enzima é envolvida na hidrólise de uma variedade de substâncias xenobióticas, incluindo organofosforados, ésteres e carbamatos. O gene da PON1 sérica apresenta dois sítios polimórficos bem determinados – a troca Gln192Arg (Q/R) e Met55Leu – que estão associados com diferenças na atividade e concentrações da enzima (COSTA et al., 2013b; POVEY, 2010).

O polimorfismo dessa enzima vem sendo descrito como potencial fator de suscetibilidade individual à exposição aos agrotóxicos OF, pois aumenta a toxicidade dos pesticidas em humanos (COSTA et al., 2003; MACKNESS et al., 2003). Evidências indicam associações positivas entre a baixa atividade da PON1,2 com o câncer: cérebro em crianças, câncer de estômago, de pulmão e de próstata (FANG et al., 2012a; SEARLES NIELSEN et al., 2005).

Os efeitos agudos dos pesticidas são bem descritos na literatura. Por outro lado, os efeitos crônicos, assim como sua interação com polimorfismos em enzimas metabolizadores de pesticidas, não são completamente entendidos (COSTA et al., 2013a; HERNÁNDEZ et al., 2013a). Acredita-se que o perfil genômico da atividade da PON1

pode aumentar a suscetibilidade aos efeitos dos OF e pode contribuir para aumentar a sua toxicidade (COSTA et al., 2013a). Poucos estudos analisaram a interação entre a exposição a pesticidas, polimorfismo PON1 (Q192R) e neoplasias hematológicas. Na Grécia, um estudo com 316 casos e 351 controles observou que o genótipo QQ e Q foi associado positivamente com neoplasias linfohematopoiéticas, sendo OR 1,99 (IC95% 1,13-3,49) e OR 1,72 (IC95% 1,33-2,23). Os modelos ajustados também revelaram uma associação positiva para aqueles que relataram alta e moderada exposição a pesticidas OR 2,15 (IC95% 1,35-3,40) e OR 2,25 (IC95% 1,21-4,19) respectivamente (KOKOUVA et al., 2013).

Na Espanha, um estudo realizado por Conesa-Zamora e colaboradores observou uma associação positiva entre o genótipo GG da PON1 e neoplasias hematológicas OR 3,7 (IC95% 1,8-7,7), principalmente para os linfomas (CONESA-ZAMORA et al., 2013). Na Austrália, um estudo caso-controle com 90 casos e 205 controles observou uma associação positiva entre o genótipo BB da PON1 e mielomas OR 2,27 (IC95% 1,06-4,76) (LINCZ et al., 2004). Anteriormente, Kerridge e colegas, também com um estudo caso-controle observaram uma associação positiva entre o genótipo BB e linfomas OR 2,27 (IC95% 1,06-4,76) (KERRIDGE, 2002). No entanto, o papel dos polimorfismos na PON1 na carcinogênese não é claro. Uma metanálise reuniu 25 estudos que avaliaram a associação entre polimorfismo Q192R na PON1 e câncer de mama, foi possível que, quando se compara o alelo Q192R, RR vs QQ, OR 0,61 (IC95%: 0,38-0,98; asiáticos). De forma diferente, o alelo 55M se apresentou associado de forma positiva com o câncer de mama OR 1,18 (IC95% 1,02-1,38), quando se comparou os genótipo ML vs LL (FANG et al., 2012b).

A Sulfotransferase (SULT) catalisa a conjugação de grupos sulfatos para uma variedade de agentes xenobióticos e substratos endógenos, a maior parte dos quais possui receptores de grupamentos hidroxilas e aminas. Os genes para a SULT1A1 contêm polimorfismos genéticos que podem estar associados com variações individuais no nível de atividade enzimática, bem como nas variações de propriedades físicas e bioquímicas. O polimorfismo no nucleotídeo 638 (G→A) leva a uma substituição de aminoácidos (Arg213His), resultando no alelo *SULT1A1*\*2, o qual apresenta baixa atividade e baixa estabilidade térmica (RAFTOGIANIS et al., 1997).

Alguns estudos verificaram a associação entre polimorfismo da SULT1A1 com câncer de mama, mielomas e câncer de cérebro em adultos (HAN et al, 2004; TANG et al., 2003; ZHENG et al., 2001; SETH et al., 2000).

## **2.4. Epidemiologia do câncer de cérebro e neoplasias hematológicas**

O impacto do câncer na população mundial continua aumentando, em parte pelo crescimento e envelhecimento da população, ao lado de exposições ambientais com relação a hábitos de vida como tabagismo, dieta e, principalmente, a exposições químicas (JEMAL et al., 2011). De acordo com dados do GLOBOCAN, cerca de 12,7 milhões de casos novos de câncer foram diagnosticados em 2008, ocorrendo cerca de 76 milhões de óbitos, sendo que 56% dos casos e 64% dos óbitos ocorreram em países em desenvolvimento (FERLAY et al., 2008). As diferenças geográficas e as variações de incidência e mortalidade dos diversos tipos de neoplasia pelo mundo sugerem uma forte influência das exposições ambientais (IWASAKI et al., 2004).

Há várias décadas, diversos pesticidas têm sido associados com o desenvolvimento de doenças crônicas em humanos, principalmente o câncer. Estudos epidemiológicos têm observado excesso de risco para diversos tipos de câncer, como por exemplo, cérebro, leucemias, linfomas, mielomas, estômago, esôfago, pulmão, colón. Acredita-se em um importante papel dos pesticidas na etiologia do câncer, no entanto, questiona-se, que outros fatores, relacionados a aspectos genéticos, estilo de vida e outras exposições, podem contribuir mutuamente (BLAIR; FREEMAN, 2009).

Os resultados dos estudos epidemiológicos publicados na década de 1990 e início dos anos 2000 são controversos. O Quadro 2 reúne revisões da literatura que avaliaram estudos sobre a exposição a pesticidas em ambiente agrícola e câncer.

Quadro 2. Descrição de metanálises que avaliaram estudos entre exposição a pesticidas/agricultores e câncer.

Tipo de câncer	Número de estudos	Meta-RelativeRisk	Autores
	33	1.30*	KHUDER; MUTGI, 1997
Cérebro	18	1.05	BLAIR et al., 1992a
	28	1.06*	ACQUAVELLA et al., 1998
	22	1.13*	VAN MAELE-FABRY; WILLEMS, 2003
Próstata	22	1.08*	BLAIR et al., 1992a
	28	1.06*	ACQUAVELLA et al., 1998
	30	1.25*	KHUDER et al., 1999
Doença de Hodgkin	12	1.16*	BLAIR et al., 1992a
	26	1.09	ACQUAVELLA et al., 1998
Linfoma Hodgkin não	36	1.10*	KHUDER; SCHAUB; KELLER-BYRNE, 1998
	14	1.05	BLAIR et al., 1992a
	23	1.03	ACQUAVELLA et al., 1998
Mieloma	32	1.23*	KHUDER; MUTGI, 1997
	12	1.12*	BLAIR et al., 1992a
	22	1.09	ACQUAVELLA et al., 1998
Leucemia	31	1.21*	VAN MAELE-FABRY; DUHAYON; LISON, 200)
	23	1.07*	BLAIR et al., 1992a
	27	1.10*	ACQUAVELLA et al., 1998
Esôfago	18	0.74	BLAIR et al., 1992a
	25	0.77	ACQUAVELLA et al., 1998
Estômago	24	1.12*	BLAIR et al., 1992a
	29	1.05	ACQUAVELLA et al., 1998

\* valor de  $p < 0.05$

#### 2.4.1. Neoplasias malignas encefálicas

As neoplasias encefálicas representam um conjunto de tumores com diferentes aspectos genéticos e biológicos, em adultos cerca de metade deles são malignos. Os tipos mais comuns são os gliomas e os meningiomas. Entre os gliomas os tipos celulares mais comuns são os glioblastomas, que representam mais de 50% dos tumores encefálicos seguidos pelos astrocitomas, oligodendrogliomas e ependimomas, que são classificados pela Organização Mundial da Saúde de acordo com seu tipo histológico em graus que variam de I a IV. Já os meningiomas são em sua maioria benignos e representam 36% dos tipos celulares diagnosticados (ADAMSON et al., 2011).

Evidências sugerem que os gliomas acometem principalmente homens, com idade

média de 62 anos, em sua maioria de cor da pele branca, caucasianos. Tais diferenças em relação a raça/cor da pele provavelmente é reflexo do status socioeconômico, pois alguns estudos vêm observando que indivíduos com os maiores níveis de escolaridade e residentes em países mais desenvolvidos têm risco elevado de deste tipo de câncer (PRESTON-MARTIN; MACK; HENDERSON, 1989; WRENSCH et al., 2002). O prognóstico varia, os gliomas são altamente letais, apenas 3% dos indivíduos acometidos por este tipo de tumor sobrevivem por mais de cinco anos após seu diagnóstico (OHGAKI, 2009). Em diversas partes do mundo tem se observado um aumento em sua sobrevivência, principalmente em decorrência de melhores cuidados médicos e novas drogas (ADAMSON et al., 2011).

No mundo, as diferenças geográficas de incidência e mortalidade sugerem aspectos ambientais na determinação do seu padrão. De acordo com dados do GLOBOCAN, esses tumores são mais incidentes em países desenvolvidos (EUA e Europa); embora sua incidência seja mais baixa em países de baixo desenvolvimento sua letalidade é maior (JEMAL et al., 2011).

A etiologia das neoplasias encefálicas é pouco entendida, embora se saiba que múltiplos fatores estejam relacionados ao seu desenvolvimento. Acredita-se que fatores ambientais são determinantes no seu desenvolvimento, pois diversas substâncias são apontadas na literatura como indutoras ou promotoras de carcinogênese. Alguns tipos específicos de N-nitrosaminas possuem relação de causalidade com o desenvolvimento de câncer de cérebro em animais e possivelmente em humanos (HUSZTHY et al., 2012).

De fato, são fatores de risco para o desenvolvimento de tumores cerebrais a radiação ionizante, algumas síndromes hereditárias como as síndromes de Turcot e de Li-Fraumeni, histórico familiar de tumor cerebral e o estado de imunossupressão. Outros possíveis fatores de risco incluem alguns agentes infecciosos, a dieta com consumo de nitrosaminas, tabaco em mulheres; fatores ocupacionais como trabalhadores agrícolas, da indústria de petróleo, uso de cloreto de vinil, aplicadores de pesticidas (WRENSCH et al., 2002). Também são associadas ao desenvolvimento de tumores algumas mutações que ocorrem ao longo da vida humana, em genes que atuam nos mecanismos de crescimento celulares, genes supressores de tumor e de reparo de DNA. Por outro lado, asma e outras síndromes alérgicas se apresentam como fatores protetores (BELL et al., 1999 ; SCHWARTZBAUM et al., 2006)

Sabe-se que as pessoas que vivem no meio rural apresentam menores taxas de mortalidade por todas as causas quando comparados à população geral (BLAIR et al.,

1992b). Contudo, alguns estudos mostram que indivíduos com ocupações agrícolas, assim como não agricultores que residem em comunidades rurais, apresentam maiores taxas de mortalidade para algumas neoplasias específicas. A principal hipótese para esse excesso na mortalidade é a exposição aos agrotóxicos (ACQUAVELLA et al., 1998; BLAIR et al., 1992b; KHUDER; SCHAUB; KELLER-BYRNE, 1998; VAN MAELE-FABRY; WILLEMS, 2003).

Diversos estudos baseados em mortalidade observaram uma associação positiva entre trabalho agrícola e câncer de cérebro. Na França, Viel e colegas, (1998) observaram uma mortalidade maior por câncer de cérebro entre agricultores quando comparados com a população geral (RR: 1,11; IC95% 1,03-1,19). Nos EUA, Waggoner et al., 2011, no *Agricultural Health Study*, observaram uma maior mortalidade por câncer de cérebro e sistema nervoso central entre aplicadores de pesticidas (SMR: 1,42; IC95% 1,10-1,83).

A associação entre ocupações agrícolas e o desenvolvimento de neoplasias cerebrais é controversa. Bohnen and Kurland (1995) concluíram a partir de uma revisão sistemática que os resultados são conflitantes e que os estudos são insuficientes para refletir uma possível relação causal. O Quadro 3 apresenta uma relação de estudos que avaliaram a associação entre pesticidas, agricultores e câncer de cérebro entre 1980 e 2013.



Quadro 3. Estudos que avaliaram a associação entre pesticidas e câncer de cérebro, publicados a partir do ano 2000

<b>Autores</b>	<b>local do estudo</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Descrição da população</b>	<b>Desfecho</b>	<b>Descrição</b>	<b>Estimativa de risco</b>	<b>IC95%</b>
Miranda-Filho et al., 2012	Brasil (1996-2005)	Caso-controle (OR)	Estudo caso-controle de mortalidade, x casos e x controles. Avaliação da ocupação na declaração de óbito	óbito por câncer de cérebro	Agricultores vs não-agricultores	1,82	1,21 - 2,71
Waggoner et al., 2011	EUA (1993 - 1997)	coorte (SMR)	Agricultural Health Study	câncer de cérebro	Coorte de agricultores e aplicadores profissionais de pesticidas	1,42	1,10 - 1,83
Rashid et al., 2010	Índia (2005 - 2008)	caso-controle (OR)	Caso-controle de base hospitalar, 432 casos e 457 controles hospitalares. Avaliação da exposição por questionário	Tumores malignos cerebrais	Exposição a pesticidas neurotóxicos	10,6	10,0- 40,0
Ruder et al., 2009	EUA (1995 - 1998)	caso-controle (OR)	Caso controle, população de adultos (18-80 anos), 798 casos e 1,175 populacionais controles. Avaliação da exposição pelo relato	Glioma	Exposição a pesticidas	1,72	0,93 - 3,31
Samanic et al., 2008	EUA (1994 - 1998)	caso-controle (OR)	Caso-controle de base hospitalar, 462 casos e 765 controles hospitalares. A avaliação da exposição a pesticidas foi realizada por um questionário e utilização da matriz de exposição ocupacional	Glioma de alto grau	Exposição a inseticidas, o quartil de maior exposição vs nunca expostos	1,70	0,70 - 3,90
Provost et al., 2006	França (1999 - 2001)	caso-controle (OR)	Caso-controle de base hospitalar com 221 casos incidentes e 442 controles populacionais pareados. Avaliação da exposição pelo histórico ocupacional.	Tumores cerebrais	Indivíduos ocupacionalmente expostos a pesticidas	1,29	0,87 - 1,91
Lee et al., 2005	EUA	caso-controle (OR)	Entrevistas telefônicas em 251 casos de glioma e 498 controles populacionais.	Glioma	Avaliação da ocupação	3,9	1,8 - 8,6

#### 2.4.2. *Neoplasias hematológicas*

As neoplasias hematológicas representam um heterogêneo grupo de tumores com origem na medula óssea e no sistema linfático (RODRIGUEZ-ABREU; BORDONI; ZUCCA, 2007). Este grupo de neoplasias é usualmente classificado em leucemias, linfomas e mielomas com uma extensa lista de subgrupos, com comportamentos diferentes em adultos e crianças. Globalmente, estima-se que a incidência das leucemias em 2012 foi de 5,2 casos por 100 mil habitantes, e para os linfomas de Hodgkin e Não-Hodgkin foram 1,1 e 6,0 casos por 100 mil habitantes respectivamente, seguidos pelo mieloma com 1,7 casos por 100 mil habitantes. Observa-se uma grande variação em sua incidência, sendo baixa, no Japão quando comparadas, por exemplo, aos Estados Unidos (FERLAY et al., 2013). Estas variações são provavelmente devidas a diferenças no padrão de exposição ambiental a carcinógenos e a configurações genéticas nas diversas populações.

A etiologia das neoplasias hematológicas demanda mais pesquisas. Provavelmente fatores genéticos e ambientais estão relacionados ao seu desenvolvimento, uma vez que a literatura tem apontado a exposição à radiação ionizante, benzeno, infecções causadas por agentes biológicos no início da vida e pesticidas como possíveis fatores de risco (DESCATHA et al., 2005; ELKADY et al., 2013; SNYDER, 2012; VAN MAELE-FABRY; DUHAYON; LISON, 2007b, 2007b).

##### 2.4.2.1. *Leucemias*

As leucemias representam um conjunto de neoplasias de origem no sistema hematopoiético. Em geral têm como causa o acúmulo de distúrbios na diferenciação e proliferação de células imaturas. Os tipos mais frequentes são as leucemias linfóides (LL) e as leucemias mielóides (LM), sendo que, em adultos, estas neoplasias acometem principalmente homens, de etnia branca, com média de idade de 60 anos (DEVITA, HELLMAN, AND ROSENBERG'S CANCER, 2011). No Brasil, 4570 novos casos foram diagnosticados em 2012, ocorrendo 3202 óbitos, em adultos (BRASIL, 2012).

A etiologia das leucemias tem sido bastante estudada. Sabe-se que fatores ambientais e genéticos estão relacionados ao seu desenvolvimento, embora relativamente poucos casos possam ser atribuídos a fatores conhecidos. Por exemplo, as exposições

ocupacionais que representam um papel importante em sua etiologia (LEE et al., 2002; DRISCOLL et al., 2005). Nas últimas décadas, estudos vêm relatando uma possível associação entre trabalhadores agrícolas e o desenvolvimento de neoplasias hematológicas (leucemias, linfomas e mielomas), sendo que as principais hipóteses levantadas pela literatura são a exposição a pesticidas e aos agentes biológicos presentes no meio rural (MCLEAN et al., 2009; MANNETJE; ENG; PEARCE, 2012).

O elevado risco de mortalidade por leucemia em agricultores tem sido observado por outros investigadores ao redor do mundo. Uma metanálise realizada por Van Maele-Fabry e colegas (2007a) reuniu doze estudos de coorte, publicados entre os anos de 1984 e 2004, que analisaram a associação entre trabalhadores de fábricas de pesticidas e leucemia. Os autores observaram um RR total de 1,43 (IC95% 1,05-1,94), embora neste estudo não fosse possível apontar qual classe de pesticidas produziu maior impacto na associação. Na Nova Zelândia, um estudo com 225 casos de leucemia e 471 controles observou OR 2,62 (IC95% 1,51-4,55) para aqueles indivíduos ocupados da horticultura e fruticultura. Sendo que para a leucemia mieloide a OR foi de 3,34 (IC95% 1,12-9,99) e para leucemia linfóide, OR 1,50 (IC95% 0,60–3,75) (MCLEAN et al., 2009). Por outro lado, outro estudo no Canadá realizado por Terry et al. (2009) não observou elevação do risco de leucemia para agricultores.

Nos Estados Unidos, a coorte do *Agricultural Health Study* evidenciou uma série de pesticidas associados ao desenvolvimento de leucemia. Indivíduos de maior exposição ao pesticida organofosforado Fonofos, em relação aos não expostos, apresentaram elevado RR 2,24 (IC95% 0,94-5,34; p de tendência 0,07) (MAHAJAN et al., 2006). Já Purdue et al. (2007) observaram que aqueles expostos ao clordane/hepataclor apresentaram elevado RR (2,60 IC95%: 1,20-6,00) para o desenvolvimento de leucemia. O estudo EPILYMPH em seis países europeus revelou que indivíduos expostos a pesticidas inorgânicos tinham a OR 1,6 (IC95% 1,0-2,5), para os pesticidas orgânicos OR de 1,5 (IC95% 1,0-2,1) e, por fim, aqueles expostos a organofosforados a OR foi de 2,7 (IC95% 1,2-6,0) (COCCO et al., 2013). Já Freeman et al. (2005) observaram que os indivíduos de maior exposição ao organofosforados diazinon apresentaram maiores estimativas de RR 3,36 (IC95% 1,08-10,5).

Os principais estudos publicados a partir do ano 2000 estão apresentados no Quadro 4.

Quadro 4. Estudos que avaliaram a associação entre pesticidas e leucemias publicados a partir do ano 2000

<b>Autores</b>	<b>Local do estudo</b>	<b>Delineamento</b>	<b>População estudada</b>	<b>Desfecho</b>	<b>Descrição</b>	<b>Estimativa de risco</b>	<b>IC95%</b>
Kwong et al., 2002	China (2003 - 2007)	caso-controle (OR)	722 recém-diagnosticados casos de LMA (agosto de 2003 a junho de 2007) e 1444 individualmente em idade sexo compatíveis pacientes em 29 hospitais em Xangai	Leucemia mieloide aguda	Ocupação	1,61	1,27 - 2,03
Freeman et al., 2005	EUA - AHS (1993 - 1997)	Coorte (HR)	Estudo de Saúde Agrícola, uma coorte prospectiva de aplicadores de pesticidas autorizados em Iowa e Carolina do Norte. 23.106.	Leucemia	Exposição a pesticidas	3,36	1,08 - 10,49
Mahajan et al., 2006	EUA - AHS (1993 - 1997)	Coorte (HR)	Foram coletadas exposição a pesticidas e outros dados por meio de questionários auto-administrados.	Leucemia	Exposição a pesticidas	2,24	0,94 - 5,34
Purdue et al., 2007	EUA - AHS (1993 - 1997)	Coorte (HR)	Aplicadores de pesticidas inscritos no Estudo de Saúde Agrícola, 57.311 aplicadores licenciados em Iowa e Carolina do Norte matriculados entre 1993 e 1997.	Leucemia	Exposição a pesticidas	2,6	1,20 - 6,00
Mclean et al., 2009	Nova Zelândia (2003 - 2004)	caso-controle (OR)	225 casos (com idades entre 20-75 anos) notificou ao Registro de Câncer da Nova Zelândia, durante 2003-04, e 471 controles.	Óbito por leucemias	Ocupações	2,62	1,51 - 4,55
Kokouva et al., 2011	Grécia (2004 - 2006)	caso-controle (OR)	Um questionário estruturado foi empregado em um estudo caso-controle de base hospitalar para reunir informações sobre demografia, ocupação, exposição a pesticidas, práticas agrícolas,	Leucemia	Exposição a pesticidas	2,14	1,09 - 4,20
Salerno et al., 2011	Itália	Coorte (HR)	A coorte agricultor (14.397 sujeitos, 78 casos) foi comparado com um grupo retalhista que estavam Vercelli moradores da província.	Leucemias	Ocupação	1,9	1,0 - 3,60
Tsai et al., 2014	EUA - AHS (1993 - 1997)	caso-controle (OR)	Agricultores, 151 casos e 224 controles	Leucemia mieloide aguda	Ocupação	1,72	1,38 - 2,13
Mills et al., 2009	EUA (1988 - 2001)	caso-controle (OR)	Leucemia associado a exposição ao pesticida maconzeb	Leucemia	Exposição a pesticidas	2,35	1,12 - 4,95
Miligi et al., 2003	Itália	caso-controle (OR)	leucemias associada a exposição ao fungicidas ditiocarbamatos	Leucemia	Exposição a pesticidas	1,7	0,80 - 3,30

#### 2.4.2.2. Linfomas

Os linfomas são tumores sólidos do sistema imunológico, classificados basicamente em dois grupos. O primeiro deles é a doença de Hodgkin (DH), distúrbio maligno no sistema linfático que afeta os linfonodos, respondendo por cerca de 12% dos linfomas diagnosticados. O segundo, linfoma não-Hodgkin (LNH), é composto por um conjunto de 20 subtipos diferentes de tumores. Essa diversidade de subtipos traz grandes desafios às pesquisas, dado que, provavelmente, tenham agentes etiológicos distintos (EKSTRÖM-SMEDBY, 2006; FREEDMAN; NADLER, 2000).

Os linfomas representam o quinto tipo de neoplasia diagnosticada em todo o mundo, atingindo 19 casos por cem mil indivíduos, nos EUA (SEER, 2013). No Brasil, dados dos registros de câncer de base populacional, relativos ao período 1996/2000, apontam uma variação de 4,3 a 14,1 casos por cem mil homens e 3,2 a 8,2 casos por cem mil mulheres, sendo as menores taxas em João Pessoa/PB e as maiores no Distrito Federal. A incidência aumenta rapidamente com a idade, especialmente a partir dos 65 anos, sendo mais agressivos quando diagnosticado antes dos 50 anos de idade (BRASIL, 2011).

Os mecanismos específicos para o desenvolvimento dos LNH ainda não são completamente conhecidos. A transformação de uma célula normal em cancerígena se dá a partir do processo de diferenciação para um fenótipo específico. Essa diferenciação, possivelmente causada por algum agente exógeno, é induzida por processos celulares que envolvem o acúmulo de lesões genéticas que resultam em translocação cromossômica, ocorrendo expansão maligna das células T e B, característica observada em 90% dos LNH (JAFFE, 2001).

A queda da imunidade, especialmente a imunossupressão, é considerada um importante fator de predisposição para os linfomas. Além disso, um grande número de vírus e outros agentes biológicos são associados com LNH, embora seu papel ainda esteja em debate. Dentre eles, podem ser destacados os vírus da imunodeficiência humana (HIV), o Epstein-Barr (EBV) e outros da família dos herpes vírus, o linfotrópico de células T humanas (HTLV) e a bactéria *Helicobacter pylori* (EKSTRÖM-SMEDBY, 2006; HUH, 2012).

A associação entre exposição a agrotóxicos e neoplasias de origem hematológica foi avaliada por uma metanálise que reuniu treze estudos caso-controles, publicados entre 1990 e 2005, tendo encontrado uma metaOR=1,35 (IC95% 1,17-1,55) para os LNH

(MERHI et al., 2007). Nas últimas décadas, outros estudos também observaram tal associação (COSTANTINI; MILIGI; VINEIS, 1998; ERIKSSON et al., 1981; FRITSCHI et al., 2005; HARTGE et al., 2005; HOHENADEL et al., 2011; NAVARANJAN et al., 2013). O Quadro 5 resume alguns desses estudos.

Já no início da década de 1990, foi publicado um estudo caso-controle de base populacional (622 casos e 1245 controles), realizado nos Estados Unidos, que avaliou a associação entre pesticidas e LNH (CANTOR et al., 1992). A exposição a qualquer pesticida em algum momento da vida apresentou uma associação positiva limítrofe (OR=1,2; IC95%: 1,0-1,5), enquanto a exposição a alguns produtos revelou razões de chances mais elevadas e estatisticamente significativas: DDT (OR=1,7; IC95% 1,2-2,6), OF (OR=1,4; IC95% 1,0-2,0) e lindano (OR=2,0; IC95% 1,0-3,7). Resultado semelhante foi observado por outro estudo caso-controle de base populacional (404 casos e 741 controles) realizado na Suécia: a exposição a herbicidas apresentou associação limítrofe (OR=1,6; IC95%: 1,0-2,5) e estatisticamente significativa aos fungicidas (OR=3,7; IC95%: 1,1-13,0), embora com grande intervalo de confiança devido ao número relativamente pequeno de expostos, dada a variedade de produtos classificados como fungicidas (HARDELL; ERIKSSON, 1999). Ainda na Suécia, cerca de uma década depois, outra publicação (910 casos e 1016 controles) detectou associação estatisticamente significativa para os herbicidas (OR=1,72; IC95%: 1,18-2,51), notadamente glifosatos (OR=2,02; IC95%: 1,10-3,71) e ácido fenoxiacético (OR=2,81; IC95%: 1,27-6,22), mas não para os fungicidas (ERIKSSON et al., 2008).

A associação foi avaliada, também, em outras regiões. Na Austrália, estudo caso-controle de base populacional (694 casos e mesmo número de controles) avaliou a exposição ocupacional, detectando uma associação entre a exposição a qualquer tipo de agrotóxico e LNH com razão de chances de 3,09; IC95% 1,42-6,70 (FRITSCHI et al., 2002). No Canadá, um estudo avaliou a exposição a múltiplos pesticidas (513 casos e 1506 controles), observando que o risco de LNH tendia a ser maior entre indivíduos que declaravam ter usado quantidade crescente de algum pesticida. As razões de chance para a categoria de maior uso foram: OR=1,63; IC95% 1,20-2,21 (p de tendência = 0,01) para o conjunto de pesticidas; OR=1,57; IC95% 0,96-2,57 (p de tendência = 0,02) para os herbicidas; OR=1,70; IC95% 0,95-3,05 (p de tendência < 0,01) para os inseticidas; e OR=1,72; IC95% 1,07-2,77 (p de tendência = 0,04) para os fungicidas (HOHENADEL et al., 2011). Na França, um caso-controle de base hospitalar avaliou a relação entre exposição ocupacional a pesticidas e neoplasias de tecidos linfóides, entre as quais 244

casos de LNH. O grupo ocupacional dos trabalhadores rurais apresentou uma associação positiva limítrofe (OR=1,5; IC95%: 1,0-2,3) com o relato de exposição a algum pesticida, e associação positiva, mas não significativa, quando analisada pelos grupos de OC, OF, fungicidas ou herbicidas (ORSI et al., 2009).

Quadro 5. Estudos selecionados que avaliaram a associação entre pesticidas e linfomas, a partir do ano 2000.

<b>Autores</b>	<b>Local do estudo</b>	<b>Delineamento</b>	<b>População estudada</b>	<b>Desfecho</b>	<b>Descrição da exposição</b>	<b>Estimativa de risco</b>	<b>IC95%</b>
Navaranjan et al., 2013	Canadá (1993-1994)	caso-controle (OR)	316 casos e 1,506 controles populacionais foram incluídos no estudo. A exposição foi estimada pelo relato sobre o uso de pesticidas	Linfoma de Hodgkin	Exposição a três ou mais pesticidas	2,47	1,06 - 5,75
Aminian et al.,2012	Iran	caso-controle (OR)	Caso-controle de base-hospitalar com adultos, foram incluídos 150 casos e 150 controles. A avaliação da exposição foi pela ocupação	Linfoma Não-Hodgkin	Ocupação na agricultura	1,58	0,82 - 3,03
Hohenadel et al., 2011	Canadá (1991-1994)	caso-controle (OR)	513 casos e 1,506 controles populacionais foram incluídos no estudo. A exposição foi estimada pelo relato sobre o uso de pesticidas	Linfoma Não-Hodgkin	Exposição a três ou mais pesticidas	1,54	1,11 - 2,12
Orci et al., 2009	França (2000 - 2004)	caso-controle (OR)	Caso controle de base hospitalar com 824 casos e 752 controles pareados. A exposição foi estimada pelo relato do uso de pesticidas	Linfoma Não-Hodgkin	Ocupação agricultor	1,4	1,0 - 2,0
Schenk et al.,2009	Estados Unidos	caso-controle (OR)	1,189 casos e 982 controles populaionais. Ocupação descrita na declaração de óbito	Linfoma Não-Hodgkin	Ocupação agricultor	0,98	0,66 - 1,45
t Mannetje A et al., 2009	Nova Zelândia (2001 - 2004)	caso-controle (OR)	291 Casos e 471 controles populacional com idade entre 25 e 70 anos de idade	Linfoma Não-Hodgkin	Ocupados da horticultura e fruticultura	2,28	1,37 - 2,39
Balasubramaniam et al., 2010	Índia (1997 - 1999)	caso-controle (OR)	Estudo caso-controle de base hospitalar 390 casos e 1384 controles	Linfoma Não-Hodgkin	Expostos a pesticidas	3,1	1,50 - 6,20
Richardson et al., 2008	Alemanha (1986 - 1998)	caso-controle (OR)	Estudo caso-controle de base populcional com adultos entre 15 e 75 anos de idade, com 858 casos. Exposição estimada via Job-exposure-matriz	Linfoma Não-Hodgkin	Ocupação na agricultura	2,67	1,31 - 7,47
Eriksson et al., 2008	Suécia (1999 - 2002)	caso-controle (OR)	910 casos e 1016 controles de base populacional. Avaliação da exposição a pesticidas foi avaliada segundo questionário	Linfoma Não-Hodgkin	Exposição a herbicidas	1,72	1,18 - 2,51
E van Balen et al., 2006	Espanha	caso-controle (OR)	Estudo caso-controle multicêntrico com adultos, x casos e x controles foram incluídos no estudo.	Linfomas	Exposição a pesticidas não arsenicais	1,8	1,10 - 2,0
Fritschi et al.,2005	Austrália	caso-controle (OR)	694 casos (RCBP) e 694 controles (listagem eleitoral)	Linfoma Não-Hodgkin	Expostos a pesticidas	3,09	1,42 - 6,70



## **2.5. Agricultura no estado do Rio de Janeiro**

A região Serrana do Rio de Janeiro ocupa uma área de aproximadamente 5.540 km<sup>2</sup>, e uma população de 869.883 habitantes, em 2010, formada pelos microrregiões: Serrana (Petrópolis, Teresópolis e São Jose do Vale do Rio Preto); Nova Friburgo (Bom Jardim, Duas Barras, Nova Friburgo e Sumidouro) e Três Rios (Areal, Comendador Levy Gasparian, Paraíba do Sul, Sapucaia e Três Rios), sendo que a maior parte da população vive nos municípios de Petrópolis, Teresópolis e Nova Friburgo, onde também se encontra a maior parte da produção agrícola (BRASIL, 2006).

Nos últimos 30 anos, a agricultura do Rio de Janeiro, que se concentra principalmente na região Serrana, passou por um grande processo de modernização e incorporação de tecnologias em sua produção (ALENTEJANO, 2010). Atualmente cerca de um milhão e oitocentos mil hectares de terras produtivas são destinados à agricultura no estado do Rio de Janeiro, absorvendo aproximadamente cento e sessenta mil homens e mulheres na atividade agrícola. A região Serrana é o principal pólo agrícola, com ênfase na horticultura e na fruticultura que abastecem a região metropolitana. A maior parte da área plantada concentra-se nos municípios de Teresópolis, Petrópolis e Nova Friburgo, totalizando 4.988 hectares de terra. Desses, aproximadamente 3.800 hectares são destinados à horticultura e fruticultura (IBGE, 2006).

Uma característica dos estabelecimentos agropecuários é a presença considerável da agricultura familiar, com predomínio de pequenas propriedades agrícolas e uso de mão de obra familiar. A agricultura familiar representa cerca de 80% dos estabelecimentos agrícolas em todo o estado do Rio de Janeiro. A região Serrana dispõe de apenas de 32% da área cultivável, mas contribui com 41,3% da produção e 64,0% da mão de obra agrícola do estado, sendo que 87,5% usam exclusivamente a força manual (BRASIL, 2006; IBGE, 1996).

Os principais agrotóxicos utilizados nos municípios da região Serrana são da classe de organofosforados (OF) e carbamatos (CB). De acordo com o último censo agropecuário, 7% da população residente na região Serrana exercia atividade agrícola (BRASIL, 2006). O uso de agrotóxicos no cultivo de frutas, hortaliças e flores é intenso, e de acordo com dados do IBGE, o volume de vendas de agrotóxicos na região Serrana nos anos de 1985 e 1996 representou cerca de 50% do montante comercializado em todo estado (IBGE, 2006; PERES; MOREIRA, 2007).

Na década de 1990, surgiram os primeiros estudos mostrando um cenário

preocupante no que diz respeito a exposição por pesticidas no estado do Rio de Janeiro. Peres e Moreira constataram que o consumo de agrotóxico na região Serrana era considerado elevado: 18 vezes acima da média estadual (PERES; MOREIRA, 2007). Um estudo realizado por Castro e Canfalonieri, no município de cachoeiras de Macacu, identificou que 22,5% dos agricultores entrevistados relataram já terem sido intoxicados, 85% não utilizavam equipamento de proteção individual e 60% nunca haviam recebido qualquer tipo de treinamento para o manuseio dos agrotóxicos (CASTRO; CONFALONIERI, 2005). No município de Paty de Alferes, foi observado que a atividade agrícola era predominantemente realizada por homens, sendo que 92% dos participantes do estudo (55) relataram não utilizar o uso de equipamento de proteção individual e 62% relataram sintomas de intoxicação (DELGADO; PAUMGARTTEN, 2004). Por sua vez, Oliveira-Silva e colegas realizaram um estudo com o objetivo de identificar sinais de intoxicação nos agricultores do município de Magé e constataram que 45% dos agricultores analisados apresentavam sinais de intoxicação e alterações na atividade da acetilcolinesterase (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001).

Nesse contexto, já existe um conjunto de evidências que apontam a relação entre a exposição a pesticidas e o desenvolvimento de câncer. Sendo assim de real urgência o incentivo aos estudos, principalmente em regiões agrícolas, e também em grupos ocupacionalmente expostos, à luz da realidade brasileira.

### **3. JUSTIFICATIVA**

O câncer representa na atualidade um dos principais problemas de saúde vivenciados pela humanidade. Evidências indicam que a incidência da maioria das neoplasias é crescente principalmente em países que se encontram em desenvolvimento. Poucos fatores de risco têm sido identificados, e os pesticidas parecem estar relacionados com o seu desenvolvimento.

O Brasil encontra-se entre os países que mais utilizam agrotóxicos e a região Serrana do estado do Rio de Janeiro é conhecida por apresentar intensa atividade agrícola com conseqüente uso elevado de tais produtos. Sabe-se que uma parcela expressiva da população encontra-se diretamente envolvida com eles, dada a importância da agricultura familiar naquela área. Além disso, as neoplasias representam a segunda causa de óbito entre indivíduos maiores de 20 anos de idade na região.

Estudos anteriores, com dados oriundos do sistema de registro de óbito, revelaram um conjunto de evidências, indicando que agricultores têm maior chance de óbito por alguns tumores, dentre eles cérebro, linfomas, mielomas e esôfago. Sendo assim, é necessário ainda entender outros aspectos principalmente sobre a exposição ambiental aos pesticidas vivenciada pela população residente em áreas agrícolas e o impacto da exposição aos pesticidas nos casos incidentes de câncer.

Assim, para o avanço no conhecimento sobre o tema é necessário dar continuidade aos estudos anteriores e avaliar o impacto da exposição ambiental e ocupacional aos pesticidas e o câncer de cérebro, assim como as neoplasias hematológicas. Isto possibilita avançar no entendimento dos principais fatores de risco ambiental associados ao desenvolvimento de câncer, na realidade brasileira, de intensa exposição a agrotóxicos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Geral**

- Explorar a associação entre a exposição aos agrotóxicos, câncer de cérebro e neoplasias hematológicas na região Serrana do estado do Rio de Janeiro;

### **4.2. Específicos**

- Avaliar a associação entre a ocupação agricultor e o óbito por leucemia em adultos residentes no estado do Rio de Janeiro.
- Avaliar a tendência da mortalidade e os efeitos de idade, período e geração na mortalidade por neoplasia maligna encefálica nas microrregiões Serrana e Metropolitana do estado do Rio de Janeiro.
- Avaliar a associação entre a exposição aos pesticidas e neoplasias hematológicas na região Serrana do Rio de Janeiro.

## 5. SUJEITOS E MÉTODOS

E Esta tese é parte do projeto maior denominado “Exposições ambientais e câncer nos municípios de Teresópolis e Petrópolis, Rio de Janeiro”. Seus produtos serão apresentados nos próximos três capítulos e as metodologias específicas estão neles detalhadas.

No capítulo 6, está apresentado o primeiro estudo que trata de uma análise do padrão temporal e geográfico da mortalidade por câncer de cérebro entre as regiões Serrana e Metropolitana, nos anos de 1996 e 2010. Foram estimados modelos de regressão por *JoinPoint* e de idade-período-coorte. Este estudo encontra-se publicado como: MIRANDA-FILHO et al. *Brain cancer mortality in an agricultural and a metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil: a population-based, age-period-cohort study, 1996–2010*. BMC Cancer, v. 14, p. 320, 6 maio 2014.

O capítulo 7 traz um estudo caso-controle de mortalidade, de base populacional, que estimou a associação entre a ocupação agricultor relatada na declaração de óbito e o óbito por leucemias (mieloide e linfóide). Foram selecionados casos e controles do sexo masculino, residentes no estado do Rio de Janeiro, que morreram entre 2006 e 2010. Foram estimados modelos de regressão logística bruta e ajustada, apresentando razões de chance assim como seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

Por fim, o capítulo 8 diz respeito a resultados preliminares do projeto matriz, que é um estudo caso-controle de base hospitalar, cujo principal objetivo é verificar a associação entre o uso de pesticidas (domiciliar e agrícola) e neoplasias selecionadas. Nessa tese, serão apresentados os dados preliminares das neoplasias hematológicas. Casos e controles seguem sendo recrutados, e para esta tese foram utilizados os dados referentes ao período entre dezembro de 2014 e fevereiro de 2016. Foram realizadas as descrições das características de casos e controles e estimado modelos de regressão logística (*Odds Ratio*) bruta e ajustada e seus intervalos de confiança

O projeto matriz foi submetido e aprovado pelo CEP ENSP N° 189/11 (Anexo 1). Os procedimentos seguem as recomendações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, modificada pela **Resolução nº466/12** do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012.

## 6. ARTIGO 1:

### **BRAIN CANCER MORTALITY IN AN AGRICULTURAL AND A METROPOLITAN REGION OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL: A POPULATION-BASED, AGE-PERIOD-COHORT STUDY, 1996–2010**

Adalberto Luiz Miranda Filho<sup>1</sup>, Rosalina Jorge Koifman<sup>1,2</sup>, Sergio Koifman<sup>1,2</sup>, Gina Torres Rego Monteiro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Environmental and Public Health Program, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>2</sup> Department of Epidemiology and Quantitative Methods, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil

---

#### **Abstract**

**Background:** Individuals who live in rural areas are at greater risk for brain cancer, and pesticide exposure may contribute to this increased risk. The aims of this research were to analyze the mortality trends and to estimate the age-period-cohort effects on mortality rates from brain cancer in two regions in Rio de Janeiro, Brazil. **Methods:** This descriptive study examined brain cancer mortality patterns in individuals of both sexes, >19 years of age, who died between 1996 and 2010. They were residents of a rural (Serrana) or a non-rural (Metropolitan) area of Rio de Janeiro, Brazil. We estimated mortality trends using Joinpoint Regression analysis. Age-period-cohort models were estimated using Poisson regression analysis. **Results:** The estimated annual percentage change in mortality caused by brain cancer was 3.8% in the Serrana Region (95% confidence interval (CI): 0.8–5.6) and –0.2% (95% CI: –1.2–0.7) in the Metropolitan Region. The results indicated that the relative risk was higher in the rural region for the more recent birth cohorts (1954 and later). Compared with the reference birth cohort (1945–49, Serrana Region), the relative risk was four times higher for individuals born between 1985 and 1989. **Conclusions:** The results of this study indicate that there is an increasing trend in brain cancer mortality rates in the rural Serrana Region in Brazil. A cohort effect occurred in the birth cohorts born in this rural area after 1954. At the ecological level, different environmental factors, especially the use of pesticides, may explain regional disparities in the mortality patterns from brain cancers.

#### **Keywords**

Brain cancer, Age-period-cohort, Agriculture, Trend, Pesticide

## **Background**

Malignant brain neoplasms are intracranial tumors that occur more frequently in adult males. Approximately 70% of these highly lethal tumors originate in glial cells (gliomas). Only 3% of patients with this histological type of cancer survive for more than 5 years after diagnosis [1-3]. The etiology of brain cancer is not well understood. Genetic and environmental factors contribute to the development of brain cancer [4-6]. Individuals with agricultural occupations and non-farmers living in rural communities have higher mortality rates for some specific cancers, including brain cancer. The main hypothesis presented in the literature that accounts for this excessive mortality is exposure to pesticides [7-11].

The Serrana Region is the main agricultural area in the state of Rio de Janeiro, Brazil, especially for the production of fruits, vegetables, and flowers. This region has the largest per capita consumption of pesticides and fertilizers and the largest numbers of inhabitants engaged in agricultural activities. In contrast, the Metropolitan Region has the lowest per capita consumption of pesticides and fertilizers and the lowest numbers of inhabitants engaged in agricultural activities. These differences in pesticide and agricultural exposure motivated the development of this ecological investigation [12,13].

Because there is no local population-based cancer registry in the state of Rio de Janeiro, this brain tumor mortality study represented an initial approach to examining the magnitude of this health problem. An evaluation of the effects of age, time period, and birth cohort on brain cancer mortality may assist in the ecological-level identification of etiologic factors related to the development of these neoplasms [14]. This approach assumed, a priori, that the effects of age could represent biological changes that occur during aging. The period when death occurs may also reflect important changes in factors that affect mortality (e.g., introduction of new treatments). The cohort effect may indicate changes in exposures that are particular to specific generations [15,16].

The country of Brazil is one of the major consumers of pesticides worldwide, but few studies that evaluate the impact of these substances on population health have been published [17]. The exposure scenario for our study consisted of an agricultural region where workers were given personal protective equipment, but there was little knowledge

about the need to use this equipment while at work [18]. In this sense, studies of the health effects of pesticide exposure in agricultural production areas in Brazil might be qualitatively and quantitatively different from studies performed in developed countries. Therefore, this study contributes to the understanding of the brain cancer patterns in areas of intensive pesticide use and explored the environmental hypotheses in the Brazilian context.

The aim of this study was to analyze mortality trends and to assess the age, birth period, and cohort effects on brain cancer mortality rates in the Serrana Region of the state of Rio de Janeiro, and to compare them with rates in the Metropolitan Region of the same state.

## **Methods**

### **Study design and population**

This was an ecological study on the distribution of deaths from brain cancer classified as C71 (malignant neoplasm of brain) in ICD-10 [19]. The study population consisted of individuals between 20 and 79 years old living in the Serrana Region and in the Metropolitan Region of the state of Rio de Janeiro between 1996 and 2010. Mortality data were obtained from the database of the Brazilian national Mortality Information System, Ministry of Health [20]. Data on the number of inhabitants during the same period were obtained electronically from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (Rio de Janeiro) [21].

### **Study area**

The Serrana Region of the state of Rio de Janeiro consists of seven municipalities. In 2010, the population size of this region was approximately 710,000 inhabitants. Approximately 90% of the population is distributed among the municipalities of Nova Friburgo and Teresópolis, and the city of Petrópolis [21]. The Serrana Region is the main agricultural area in the state. The 2006 agricultural census reported that 5.34% of the regions' workers were engaged in agricultural activities [22].

The Metropolitan Region of the state of Rio de Janeiro consists of 19 municipalities, including the capital (Rio de Janeiro). In 2010, 54% of the 11,600,000 individuals that lived in this region resided in the capital city [21]. The 2006 agricultural census reported



that 0.01% of workers in the Metropolitan Region were engaged in agricultural activities [22].

### **Study variables**

Brain cancer mortality rates for each age group were calculated per 100,000 inhabitants and were adjusted by world standard population [23]. We included the variables age (in 5-year intervals), number of deaths (grouped into 5-year periods), the population at risk in the middle of each 5-year interval (person-time), and the study period grouped in 5-year categories in the analysis of age, period, and cohort effects.

### **Statistical analysis**

We performed a descriptive analysis of mortality rates (means and standard deviations), and of global and specific adjusted rate ratios, by age group.

Trend analysis was performed using log-linear Poisson regression. The objective of this analysis was to identify significant changes in rate patterns during the study period. An estimated annual percentage change (EAPC) was calculated for each change. Results with a p-value <0.05 were considered to be statistically significant. The choice of the model was determined using a permutation method [24]. These analyses were performed using Joinpoint version 3.4 software (Statistical Research and Applications Branch, National Cancer Institute, USA).

During the analysis of the age, period, and cohort effects, and the estimation of values for relative risk (RR), models were adjusted using log-linear Poisson regression modeling. The model assumed that the number of deaths observed during the study period followed a Poisson distribution with constant mortality rates and events that were independent from each other. The logarithm (log) of the mortality rates was an additive function of the parameters as described by

$$\log(r_{ij}) = (D_{ij} / P_{ij}) = \mu + (A)\alpha_i + (P)\beta_j + (P - A)\gamma_k$$

where  $(r_{ij})$  = mortality rate expected;  $D_{ij}$  = number of deaths in the i-th age group in the j-th period;  $P_{ij}$  = population in the i-th age group and j-th period; A = age, P = period;  $\mu$  = intercept adjusted mean,  $\alpha_i$  = effect of the i-th age group;  $\beta_j$  = effect of the j-th period;  $\gamma_k$  = effect of the k-th cohort [25,26]. The model that best fit the data was selected using

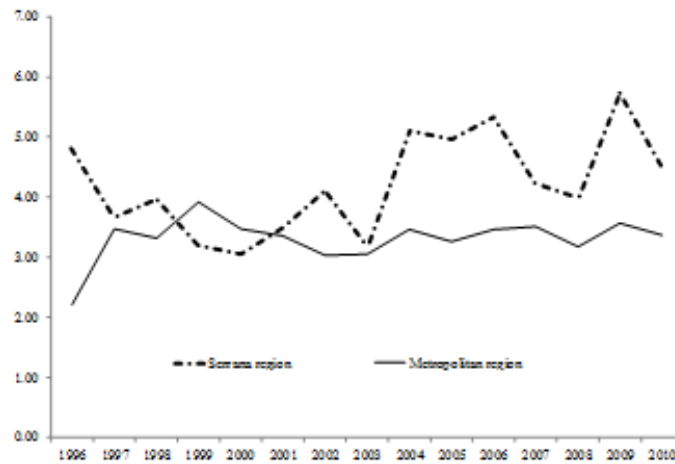
the deviance function and was assessed by comparing the effects of each parameter in relation to the full model (age, period, and cohort). Models with a p-value <0.05 were considered to be statistically significant.

We chose the parameterization method proposed by Holford [28] to overcome the uncertainty associated with nonidentifiability. The reference group for the age effect was the 20–24 year age group, and the reference for the period effect was the 1996–2000 period. The reference for the generation of births was the median value, because central cohorts are more stable [27,28]. The periods 1945–1949 and 1940–1944 were used for the Serrana and Metropolitan regions, respectively. The statistical software R version 2.15.1, Epi version 1.1.9 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; <http://www.r-project.org>) was used for this analysis.

## Results

Between 1996 and 2010, there were 412 deaths caused by brain cancer in individuals >19 years of age in the Serrana Region (mean rate = 4.20 deaths per 100,000 inhabitants; standard deviation = 0.85). There were 5,322 brain cancer deaths (mean rate = 3.39 deaths per 100,000 inhabitants; standard deviation = 0.23) during the same time period in the Metropolitan Region. The mean ages at death were 64 and 65 years in the Serrana and Metropolitan regions, respectively. Compared with the Metropolitan Region, the ratio of adjusted mortality rates in the Serrana Region was higher in all age groups, with a mean increase that was 40% higher.

Figure 1 presents the results for the variation in adjusted mortality rates in the two regions between 1996 and 2010. There were two distinct periods of rate behavior. In the Serrana Region, the EAPC was –9.6% (95% CI: –30.4–17.5) between 1996 and 1999 and was 4.2% (95% CI: 0.4–8.1) between 1999 and 2010. In contrast, in the Metropolitan Region the EAPC was 18.4% (95% CI: –8.8–53.6) between 1996 and 1998 and was –0.5% (95% CI: –1.8–0.9) between 1998 and 2010.




---

**Figure 1. Trends in mortality from brain cancer adjusted by world standard population in the Serrana region and Metropolitan area of Rio de Janeiro between 1996 and 2010.** Axis Y shows the mortality rates per one hundred thousand inhabitants and axis X shows the calendar year.

---

The risk of death from brain cancer increased with age in both regions (Table 1). The greatest increases were in the Serrana Region. The RR for the oldest age group (75–79 years) was 33.63 (95% CI: 15.24–74.22) in the Serrana Region and was 23.78 (95% CI: 22.55–25.07) in the Metropolitan Region (reference age group, 20–24 years).

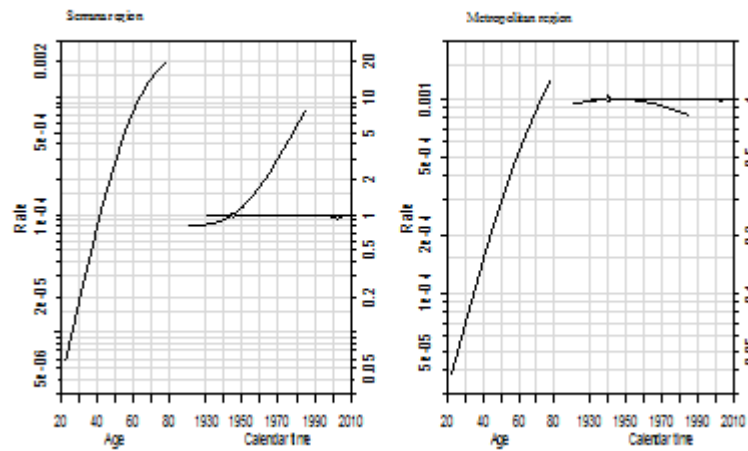
**Table 1. Estimates of Relative Risk (RR) and confidence interval with 95% reliability of age, birth cohort and period, in the Metropolitan and the Serrana regions of Rio de Janeiro**

Variables	Serrana region			Metropolitanregion		
	N	RR	95% CI	N	RR	95% CI
<b>Age</b>						
20 to 24	10		Reference	126		Reference
25 to 29	9	0.49	0.28 - 0.88	139	1.13	1.09 - 1.18
30 to 34	15	0.64	0.34 - 1.20	207	1.73	1.65 - 1.81
35 to 39	19	1.05	0.52 - 2.11	240	2.07	1.97 - 2.17
40 to 44	27	1.95	0.95 - 4.00	353	3.15	3.00 - 3.31
45 to 49	28	2.51	1.20 - 5.25	464	4.45	4.23 - 4.68
50 to 54	44	6.58	3.08 - 14.08	588	6.47	6.15 - 6.81
55 to 59	46	10.37	4.79 - 22.44	615	8.25	7.84 - 8.69
60 to 64	61	18.87	8.67 - 41.07	719	11.96	11.36 - 12.60
65 to 69	63	27.7	12.65 - 60.66	695	14.99	14.23 - 15.80
70 to 74	49	27.13	12.33 - 59.72	627	17.60	16.70 - 18.54
75 to 79	41	33.63	15.24 - 74.22	549	23.78	22.55 - 25.07
<b>Birthcohort</b>						
1920-24	8	0.58	0.44 - 0.78	124	0.88	0.86 - 0.90
1925-29	31	0.80	0.67 - 0.94	374	1.03	1.02 - 1.05
1930-34	55	0.70	0.61 - 0.80	646	0.94	0.94 - 0.95
1935-39	48	0.59	0.52 - 0.52	685	0.99	0.98 - 1.00
1940-44	52	0.68	0.61 - 0.75	648	Reference	
1945-49	58	Reference		625	1.04	1.03 - 1.05
1950-54	35	0.81	0.72 - 0.93	603	1.06	1.04 - 1.07
1955-59	34	1.19	1.01 - 1.41	497	0.97	0.95 - 0.98
1960-64	32	2.00	1.53 - 2.60	370	0.93	0.91 - 0.94
1965-69	21	1.67	1.20 - 2.32	265	0.90	0.88 - 0.92
1970-74	14	2.23	1.46 - 3.42	195	0.92	0.89 - 0.95
1975-79	12	2.72	1.54 - 4.81	152	0.86	0.83 - 0.89
1980-84	7	4.07	1.83 - 9.04	96	0.90	0.86 - 0.95
1985-89	5	4.17	1.79 - 9.74	42	0.95	0.89 - 1.02
<b>Period</b>						
1996 to 2000	102		Reference	1554		Reference
2001 to 2005	129	0.98	0.92 - 1.03	1718	0.98	0.97 - 0.98
2006 to 2010	181	1	1	2050	1	1

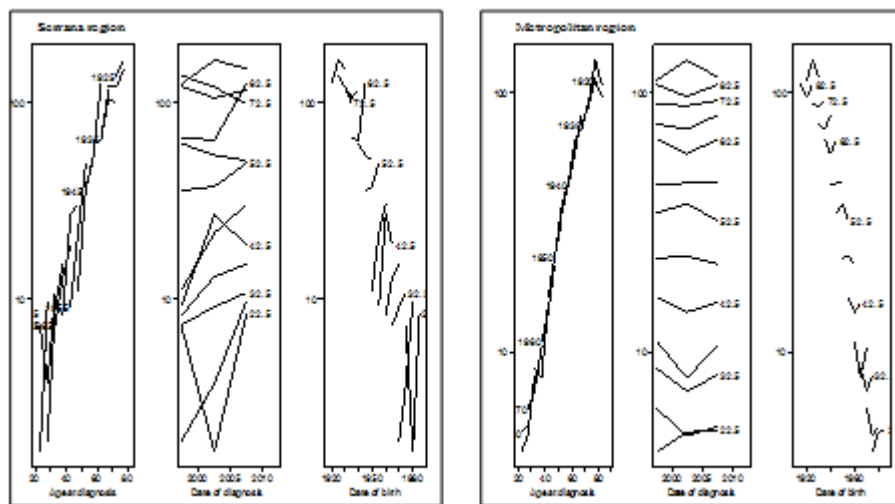
The median birth cohort was the 1945–1949 period for the Serrana Region. The RR was positive, and statistically significant, from 1955–1959, and was 4.17 (95% CI: 1.79–9.74) for the youngest individuals, born between 1985 and 1989. In the Metropolitan Region, the median occurred between 1940–1944 and the RR ranged from 0.89 (95% CI: 0.83–0.89) to 1.03 (95% CI: 1.04–1.07).

Figure 2 illustrates the age, period, and cohort effects, and reveals differences between birth cohort effects in the Serrana and Metropolitan regions. Figure 3 presents the results for an age-period-cohort comparison of age-specific mortality rates. Table 2 summarizes

the goodness of fit results for the models. The complete model reflects the best fit of the individual effects of age, period, and cohort compared with two factors only.



**Figure 2. Estimates of the age-period-cohort effects on brain cancer mortality in residents of the Serrana and Metropolitan regions of the state of Rio de Janeiro, 20 to 79 years of age, from 1996 to 2010: The figures shows: Right – brain cancer mortality rates to 100 thousand inhabitants; Center - brain cancer mortality effects by birth cohort. Left – effects by death period.**



**Figure 3. Comparing age-period-cohort of age-specific mortality rate. Axis X shows the effect of Age-period-cohort and axis Y shows the (log) mortality rates per one hundred thousand inhabitants.**

**Table 2. Goodness of fit of age-period-cohort models**

Model	Serrana region				Model	Metropolitanregion			
	Resid. Df	Resid. Dev	Deviance	p-value		Resid. Df	Resid. Dev	Deviance	p-value
Age	409	379.1			Age	5,394	5786.8		
Age-drift	408	341.55	37.551	0.000	Age-drift	5,393	5778.9	7.926	0.005
Age-Cohort	407	313.66	27.896	0.000	Age-Cohort	5,392	5665.6	113.305	0.001
Age-Period-Cohort	406	308.16	5.501	0.019	Age-Period-Cohort	5,391	5569.5	96.103	0.001
Age-Period	407	330.42	-22.267	0.002	Age-Period	5,392	5696.6	-127.108	0.001
Age-drift	408	341.55	-11.129	0.001	Age-drift	5,393	5778.9	-82.301	0.001

## Discussion

The results indicated that there were differences in trend patterns between the two regions. The Serrana Region had higher mortality rates and an increasing trend in mortality over the period analyzed (1996–2010). In contrast, an opposite trend occurred in the Metropolitan area. Mortality rates were lower and declined during the study period, although the decrease was not statistically significant.

Monteiro and Koifman [29] reported an increase in brain cancer mortality rates in Rio de Janeiro between 1980 and 1998 in individuals >65 years of age. Legler et al. [30] analyzed brain cancer mortality rates in the United States between 1975 and 1999, and reported a stable distribution of mortality rates, except in the age group between 64 and 74 years of age. This group had an increase of 5.5% in the EAPC between 1979 and 1995 [30]. In the Umbria Region of Italy, Stracci et al. [31] reported an increasing trend in brain cancer mortality rates of 2.33% (95% CI: 1.42–3.23) in males and 1.78% (95% CI: 0.62–2.95) in females.

The increases in brain cancer incidence and mortality rates that have occurred in recent decades may be attributed to improved diagnostic capability that has resulted from the use of computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI). Population aging has likely also contributed to this change, because age represents an important risk factor for intracranial tumors [32–34]. However, new technologies and aging do not fully explain the increases in incidence and mortality, and there may also be a significant contribution from environmental risk factors [35].

Differences in the magnitude of brain cancer mortality rates observed in this study cannot be explained by greater access to MRI and CT scans. The magnitude of the adjusted

mortality rates in the Serrana Region is somewhat higher than the rates in Rio de Janeiro, which has greater access to these diagnostic tools. One hypothesis for the dissimilarity is differences in patterns of exposure to distinct environmental carcinogens between the two regions.

The result of this study indicated that there was a statistically significant age effect on the distribution of brain cancer mortality rates in both regions. Age is an important risk factor in the development of several types of tumors. The number of cell divisions increases during human aging. During cell division errors in DNA replication occur that are critical for the formation of mutations. When these mutations occur in DNA repair mechanisms, they can result in the development of tumors [36]. Flaws in DNA replication can also be induced by specific environmental agents [37].

The most recent birth cohorts in the Serrana Region had higher RRs. This effect may reflect changes in exposures to environmental agents that occurred after 1950, and that have been present since then. Environmental factors likely contribute to the risk of developing brain cancer. Many substances are inducers or promoters of carcinogenesis, including several pesticides [38-41].

The hypothesis for this difference in RR among the birth cohorts of the two regions accounts for differences in patterns of environmental exposures. The greater RRs in the 1980s cohorts may reflect exposures that occurred in childhood, because those individuals were  $\leq 30$  years old when they died. Exposure to pesticides in utero and during childhood is a potential risk factor for the development of brain cancer [42,43]. Humans may be exposed to pesticides from several sources, including pesticides present in food and in agricultural and residential areas [44]. The timing of the exposure during development is also important, because specific developmental periods during childhood are more sensitive to the biological effects associated with pesticide exposure [45]. Exposure during these periods may significantly contribute to the risk of development of cancer in adult life, but the causal relationships are not clear.

Compared with the Metropolitan Region, younger patients in rural regions may not have the same level of access to early and accurate diagnosis and effective treatment. Survival rates of rural patients may be lower because of delayed diagnosis and delayed transfer to the more developed cancer hospitals in the cities. Additionally, the results in Table 1 indicated that age is the strongest risk factor. Individuals <35 years in the Serrana Region

and <25 years in the Metropolitan Region had the lowest mortality rates. In the Serrana Region, individuals from the most recent birth cohort had four times greater mortality rates, compared with those born in 1945–1949 (referent birth cohort).

Over the past 30 years, the Serrana Region has gone through a process of agricultural modernization [46]. This region is the main agricultural area in Rio de Janeiro, produces mainly vegetables, fruits and flowers, and employs the greatest numbers of workers engaged in agricultural activities in the state [12,22]. According to Brazilian Institute of Geography and Statistics data, large amounts of pesticides are used to grow fruits, vegetables, and flowers. The 1996 volume of pesticides sold in the Serrana Region represented approximately 50% of the total sales volume in the entire state [13].

Consumption of pesticides in Brazil increased from 600 million liters to 850 million liters between 2002 and 2011. The number of commercialized chemicals increased from 468 in 1995 to 600 in 2003. Per hectare consumption of pesticides increased from 3.2 kg to 3.6 kg between 2000 and 2009. In the Serrana Region, pesticide use has been high since 1986, which suggests that the population has been exposed to high levels of these chemicals over the last three decades. Considering the latency period between exposure and cancer diagnosis, it is reasonable to propose that the high use of pesticides in this region could have contributed to increases in the occurrence of diseases related to pesticides, including brain cancer [47-49].

Most of the pesticides used in horticulture, and fruit and flower cultivation are members of the organophosphate and carbamate classes of pesticides. Over the last few years, the carcinogenesis mechanisms associated with chemical induction and promotion of tumors by chemicals has been well-studied. Organophosphate and carbamate pesticides have two possible mechanisms of carcinogenesis. One mechanism is based on genotoxicity (ability to react with DNA) and the other is based on epigenetic mechanisms (changes that alter genetic expression without modifying the DNA sequence) [50]. *In vitro* evidence indicates that organophosphate pesticides induce DNA mutations and methylation. The herbicide paraquat promotes changes in histone acetylation in cell culture [51-53].

Brain cancer in the Serrana Region should be more investigated further. Other studies have found that farmer and resident rural populations have high estimates of risk of death from specific cancers, especially brain cancers [54,55]. Exposure to pesticides may have



an important role for the development of brain cancer, as indicated by the mortality rates that were found in our study.

Our results should be interpreted cautiously because ecological studies can be affected by inherent design limitations [56]. A common limitation of studies that use death certificate data is the accuracy of the mortality statistics. However, in a Rio de Janeiro-based study, Monteiro et al. [57] reported an accuracy of 90.1% in the reporting of death from brain cancer. In the Serrana Region, data on deaths from brain cancer had a positive predictive value of 90% [58]. The ratio of the reported deaths in Chapter 18 (Sign Symptoms and Abnormal Findings in Physical Examination and Laboratorial Works) was 4.95% during the study period, and values <6% indicate good record quality [59]. Another study limitation is inherent to uncertainties attributed to the nonidentifiability of the models [15,27]. The three components age, period, and cohort are linear, and it is impossible to simultaneously estimate all three effects in the regression models. We used a method proposed by Holfrold to account for this problem [28].

This original study detected differences in the epidemiological patterns of brain cancer. Internationally accepted variables were used to study the distribution of disease (e.g., the distribution of mortality by age group (age effect), calendar year of death (period effect), and birth year of the deceased (cohort effect). This approach enabled us to generate hypotheses about the contribution of different environmental factors that may explain regional disparities in the distribution of mortality from brain cancer.

This study contributes to the understanding of ecological risk factors for death from brain cancer. The age-period-cohort model proved to be an efficient analytical method and found important differences in mortality patterns that suggest that there were differences in exposure between the two regions. We also found that there was a significant cohort effect, which suggested that residing in an agricultural area during early life increased the risk of mortality. This result supports the hypothesis that environmental exposures are determinants in mortality from brain cancer. Other studies of this population should be prioritized to determine the individual factors that are associated with the development of cancer.

## Conclusions

The results of this study indicated that there was an increasing trend in brain cancer mortality over time among adults living in an agricultural area in the state of Rio de Janeiro. The exploratory data analysis revealed the presence of significant birth cohort effects on the distribution of mortality in 1954 and later. The RR of mortality from brain cancer was four times higher among individuals born between 1980 and 1989, compared with those born in 1945–1949.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

## Authors' contributions

ALMF, RJK, SK, and GTRM conceived the study and drafted the manuscript. ALMF collected and analyzed the data. ALMF, RJK, SK, and GTRM discussed the results and reviewed the manuscript. All of the authors read and approved the final paper.

## Acknowledgments

The authors thank the Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – Fundação Oswaldo Cruz for supporting the submission of the manuscript. We also thank the reviewers for their helpful suggestions. ALMF received scholarships from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. RJK and SK are supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

## References

1. Ohgaki H: **Epidemiology of brain tumors.***Methods Mol Biol Clifton NJ* 2009, **472**:323–342.
2. Rao JS: **Molecular mechanisms of glioma invasiveness: the role of proteases.***Nat Rev Cancer* 2003, **3**:489–501.
3. Surawicz TS, McCarthy BJ, Kupelian V, Jukich PJ, Bruner JM, Davis FG: **Descriptive epidemiology of primary brain and CNS tumors: results from the central brain tumor registry of the United States, 1990–1994.***NeuroOncol* 1999, **1**:14–25.

4. Bell DW, Varley JM, Szydlo TE, Kang DH, Wahrer DC, Shannon KE, Lubratovich M, Verselis SJ, Isselbacher KJ, Fraumeni JF, Birch JM, Li FP, Garber JE, Haber DA: **Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome.***Science* 1999, **286**:2528–2531.
5. Nichols KE, Malkin D, Garber JE, Fraumeni JF Jr, Li FP: **Germ-line p53 mutations predispose to a wide spectrum of early-onset cancers.***Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol* 2001, **10**:83–87.
6. Schwartzbaum JA, Fisher JL, Aldape KD, Wrensch M: **Epidemiology and molecular pathology of glioma.***Nat Clin Pract Neurol* 2006, **2**:494–503.
7. Blair A, Freeman LB: **Epidemiologic studies in agricultural populations: observations and future directions.***J Agromedicine* 2009, **14**:125–131.
8. Blair A, Zahm SH: **Agricultural exposures and cancer.***Environ Health Perspect* 1995, **103**(Suppl 8):205–208.
9. Dich J, Zahm SH, Hanberg A, Adami HO: **Pesticides and cancer.***Cancer Causes Control CCC* 1997, **8**:420–443.
10. Keller-Byrne JE, Khuder SA, Schaub EA, McAfee O: **A meta-analysis of non-Hodgkin's lymphoma among farmers in the central United States.***Am J Ind Med* 1997, **31**:442–444.
11. van Maele-Fabry G, Willems JL: **Prostate cancer among pesticide applicators: a meta-analysis.***Int Arch Occup Environ Health* 2004, **77**:559–570.
12. Peres F, Moreira JC: **Health, environment, and pesticide use in a farming area in Rio de Janeiro State, Brazil.***Cad Saude Publica* 2007, **23**:S612–S621.
13. Brazil: **Brazilian institute of geography and statistics. Agricultural Census(1996).** 1996. Available: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/> Accessed 01/02/13.
14. Shen Y-C, Chang C-J, Hsu C, Cheng C-C, Chiu C-F, Cheng A-L: **Significant difference in the trends of female breast cancer incidence between Taiwanese and Caucasian Americans: implications from age-period-cohort analysis.***Cancer*

*Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol* 2005, **14**:1986–1990.

15. Rosenberg PS, Anderson WF: **Age-period-cohort models in cancer surveillance research: ready for prime time?** *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol* 2011, **20**:1263–1268.

16. Tarone RE, Chu KC: **Evaluation of birth cohort patterns in population disease rates.** *Am J Epidemiol* 1996, **143**:85–91.

17. Schreinemachers P, Tipraqsa P: **Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries.** *Food Policy* 2012, **37**:616–626.

18. Delgado IF, Paumgarten FJR: **Pesticide use and poisoning among farmers from the county of Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brazil.** *Cad Saude Publica* 2004, **20**:180–186.

19. World Health Organization: *World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Health-related Problems - 10th Revision.* 2nd edition. Geneva: World Health Organization; 1995.

20. Brazil: **Mortality information system (DATASUS).** 2010. Available: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205>. Accessed 02/04/13.

21. Brazil: **Brazilian institute of geography and statistics. IBGE's auto recovery system (SIDRA).** 2011. Available: <ftp://ftp.ibge.gov.br/>. Accessed 05/02/13.

22. Brazil: **Brazilian Institute of Geography and Statistics). Agricultural census (2006).** Available: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?z=t&o=11&i=P>. Accessed 02/04/13.

23. SEGI M, FUJISAKU S, KURIHARA M, NARAI Y, SASAJIMA K: **The age-adjusted death rates for malignant neoplasms in some selected sites in 23 countries in 1954–1955 and their geographical correlation.** *Tohoku J Exp Med* 1960, **72**:91–103.

24. Kim HJ, Fay MP, Feuer EJ, Midthune DN: **Permutation tests for joinpoint regression with applications to cancer rates.** *Stat Med* 2000, **19**:335–351.

25. Holford TR: **The estimation of age, period and cohort effects for vital rates.***Biometrics* 1983, **39**:311–324.
26. Holford TR: **Age-Period-Cohort Analysis.** In *EncyclBiostat*. Edited by Armitage P, Colton T. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2005.
27. Clayton D, Schifflers E: **Models for temporal variation in cancer rates. I: Age-period and age-cohort models.***Stat Med* 1987, **6**:449–467.
28. Holford TR: **Understanding the effects of age, period, and cohort on incidence and mortality rates.***AnnuRevPublic Health* 1991, **12**:425–457.
29. Monteiro GTR, Koifman S: **Mortalidade por tumores de cérebro no Brasil, 1980–1998.***Cad SaudePublica* 2003, **19**:1139–1151.
30. Legler JM, Ries LAG, Smith MA, Warren JL, Heineman EF, Kaplan RS, Linet MS: **Brain and other central nervous system cancers: recent trends in incidence and mortality.***J Natl Cancer Inst* 1999, **91**:1382–1390.
31. Stracci F, Canosa A, Minelli L, Petrinelli AM, Cassetti T, Romagnoli C, Rosa FL: **Cancer mortality trends in the Umbria region of Italy 1978–2004: a joinpoint regression analysis.***BMC Cancer* 2007, **7**:10.
32. Boutwell RC, Mitchell JB: **Diffusion of new technologies in the treatment of the Medicare population. Implications for patient access and program expenditures.***Int J Technol Assess Health Care* 1993, **9**:62–75.
33. Inskip PD, Mellemkjaer L, Gridley G, Olsen JH: **Incidence of intracranial tumors following hospitalization for head injuries (Denmark).***Cancer Causes Control CCC* 1998, **9**:109–116.
34. Percy C, Muir C: **The international comparability of cancer mortality data. Results of an international death certificate study.***Am J Epidemiol* 1989, **129**:934–946.
35. Shugg D, Allen BJ, Blizzard L, Dwyer T, Roder D: **Brain cancer incidence, mortality and case survival: observations from two Australian cancer registries.***Int J Cancer J Int Cancer* 1994, **59**:765–770.

36. Richardson B: **Impact of aging on DNA methylation.***Ageing Res Rev* 2003, **2**:245–261.
37. IARC: **Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Occupational exposures in insecticide application and some pesticides.***IARC MonogrEvalCarcinog Risk Chem Man* 1991, **53**:179–249.
38. Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, Barnholtz-Sloan JS, Davis FG, Il'yasova D, Kruchko C, McCarthy BJ, Rajaraman P, Schwartzbaum JA, Sadetzki S, Schlehofer B, Tihan T, Wiemels JL, Wrensch M, Buffler PA: **Brain tumor epidemiology consortium: brain tumor epidemiology: consensus from the brain tumor epidemiology consortium.***Cancer* 2008, **113**(7 Suppl):1953–1968.
39. Druckrey H, Landschütz C: **[Transplacental and neonatal carcinogenesis by ethylnitrosobiuret (ENBU) in BD IX-rats].***Z FürKrebsforschKlinOnkol Cancer Res ClinOncol* 1971, **76**:45–58.
40. Huszthy PC, Daphu I, Niclou SP, Stieber D, Nigro JM, Sakariassen P, Miletic H, Thorsen F, Bjerkvig R: **In vivo models of primary brain tumors: pitfalls and perspectives.***NeuroOncol* 2012, **14**:979–993.
41. Swenberg JA, Koestner A, Wechsler W: **The induction of tumors of the nervous system in rats with intravenous methylnitrosourea (MNU).***J NeuropatholExpNeurol* 1971, **30**:122.
42. Daniels JL, Olshan AF, Savitz DA: **Pesticides and childhood cancers.***Environ Health Perspect* 1997, **105**:1068–1077.
43. Walker KM, Carozza S, Cooper S, Elgethun K: **Childhood cancer in Texas counties with moderate to intense agricultural activity.***J AgricSaf Health* 2007, **13**:9–24.
44. Zahm SH, Ward MH: **Pesticides and childhood cancer.***Environ Health Perspect* 1998, **106**(Suppl 3):893–908.
45. Infante-Rivard C, Weichenthal S: **Pesticides and childhood cancer: an update of Zahm and Ward's 1998 review.***J ToxicolEnviron Health B CritRev* 2007, **10**:81–99.

46. R, Alentejano P, Alentejano PRR: **A evolução do espaço agrário Fluminense.***GEOgraphia* 2010, **7**:7–9.
47. Brazil: **Brazilian institute of geography and statistics. Agricultural census.** 1985. Available in: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/>. Accessed 02/04/13.
48. Brazil: **Brazilian institute of geography and statistics: sustainable development indicators.** 2013. Available: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/>. Accessed 02/04/13.
49. Augusto S, Carneiro F, Pignati W, Rigotto RM, Friedrich K, Faria N, Burigo A, Ferreira M: **DOSSIER ABRASCO - a warning about the impacts of pesticides in health Part 2 - Pesticides, health, environment and sustainability.** 2012. Available: <http://www.abrasco.org.br/UserFiles/Image/Dossieing.pdf>. Accessed: 02/05/13.
50. Harper BL, Morris DL: **Implications of multiple mechanisms of carcinogenesis for short-term testing.***TeratogCarcinog Mutagen* 1984, **4**:483–503.
51. Song C, Kanthasamy A, Anantharam V, Sun F, Kanthasamy AG: **Environmental neurotoxic pesticide increases histone acetylation to promote apoptosis in dopaminergic neuronal cells: relevance to epigenetic mechanisms of neurodegeneration.***MolPharmacol* 2010, **77**:621–632.
52. Song C, Kanthasamy A, Jin H, Anantharam V, Kanthasamy AG: **Paraquat induces epigenetic changes by promoting histone acetylation in cell culture models of dopaminergic degeneration.***Neurotoxicology* 2011, **32**:586–595.
53. Zhang X, Wallace AD, Du P, Lin S, Baccarelli AA, Jiang H, Jafari N, Zheng Y, Xie H, Soares MB, Kibbe WA, Hou L: **Genome-wide study of DNA methylation alterations in response to diazinon exposure in vitro.***Environ ToxicolPharmacol* 2012, **34**:959–968.
54. Meyer A, Chrisman J, Moreira JC, Koifman S: **Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil.***Environ Res* 2003, **93**:264–271.

55. Miranda-Filho AL, Monteiro GTR, Meyer A: **Brain cancer mortality among farm workers of the State of Rio de Janeiro, Brazil: a population-based case-control study, 1996–2005.***Int J Hyg Environ Health* 2012, **215**:496–501.
56. Morgenstern H: **Ecologic studies in epidemiology: concepts, principles, and methods.***Annu Rev Public Health* 1995, **16**:61–81.
57. Monteiro, Koifman, Koifman: **[Reliability and accuracy of reported causes of death from cancer. I. Reliability of all cancer reported in the State of Rio de Janeiro, Brazil].***CadSaude Publica MinistSaudeFund Oswaldo Cruz EscNacSaude Publica* 1997, **13 Suppl 1**:39–52.
58. Miranda F, Adalberto L: *Mortalidade por neoplasias potencialmente associadas à atividade agrícola no estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca; 2012. Available in: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=643563&indexSearch=ID>. Accessed: 01/05/13.
59. França E, de Abreu DX, Rao C, Lopez AD: **Evaluation of cause-of-death statistics for Brazil, 2002–2004.***Int J Epidemiol* 2008, **37**:891–901.



## 7. ARTIGO 2:

### FARMING AND MORTALITY FROM LEUKEMIA IN RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL: A POPULATION-BASED CASE-CONTROL STUDY

Adalberto Miranda-Filho<sup>1</sup>, Armando Meyer<sup>2</sup>, Rosalina Koifman<sup>1</sup>, Sergio Koifman<sup>1</sup>, Gina Torres Rego Monteiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Brazil

<sup>2</sup> Environmental and Occupational Branch, Public Health Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

---

#### Abstract

**Purpose:** The etiology of leukemia is poorly understood and involves environmental and genetic risk factors. It has been growing evidence linking pesticide exposure and risk of leukemia. Although Brazil is one of largest pesticide market in the world, association of pesticide and leukemia in Brazil remains unexplored. We investigated the association between farming, pesticide use, and death from leukemia in Brazil. **Methods:** We performed a population-based case-control study in Rio de Janeiro state between 2006 and 2010. Mortality data were collected from Brazilian mortality information system. Data on pesticide use in each city of Rio de Janeiro State was obtained from the Brazilian agricultural censuses of 1985. Case and controls were men, over 19 year-old. Cases were those who died by myeloid or lymphoid leukemia, while controls were those who died due to other causes of death, but neoplasm. OR and 95% confidence interval, adjusted for age, race, education, and occupation were estimate by logistic regression. **Result:** A total of 490 cases and 94,310 controls were selected. Adjusted analysis revealed that farmers were at significantly higher risk to die by myeloid leukemia (OR: 1.69; 95%CI: 1.10 – 2.86), but not by the lymphoid type (OR: 0.87; 95%CI: 0.34 - 2.20). Cities in the highest quartile of pesticide expenditure showed elevated myeloid leukemia mortality (MOR: 1.91; 95%CI: 0.88 - 4.03). **Conclusion:** Our results showed a positive association between farming, pesticide use, and risk of death by myeloid leukemia, but not by lymphoid leukemia, in the State of Rio de Janeiro, Brazil.

**Keywords:** Farmers; Pesticides, Mortality, Leukemia

## **Introduction**

Leukemia is a heterogeneous group of neoplasms from hematopoietic system. The most common types of leukemia in adults are lymphoid leukemia (LL) and myeloid Leukemia (ML), which include chronic and acute subtypes (Redaelli et al., 2004; Deschler and Lübbert 2006; Rohrbacher and Hasford 2009; Inaba et al. 2013). The aetiology of leukemia remains unclear, but besides genetics, it is likely that several environmental factors, including ionizing radiation, benzene, viruses and pesticides are associated to its development (Van Maele-Fabry et al. 2007a; Snyder 2012; Conesa-Zamora et al. 2013; Leuraud et al. 2015).

Regarding pesticides, there has been growing evidence that occupational and environmental exposure to these compounds plays an important role in the aetiology of hematological tumors such as leukemia (Merhi et al. 2007a; Van Maele-Fabry et al. 2008; Robinson et al. 2015). The International Agency for Research on Cancer (IARC) has revised the carcinogenicity of some organophosphate pesticides (OP). Accordingly, the OP Tetraclorvinphos and Parathion were classified as possibly carcinogenic to human (Group 2B); Diazinon, Glyphosate, and Malation were classified as probably carcinogenic to humans (Group 2A) (Guyton et al. 2015). In addition, one meta-analyse have reported a positive association between some pesticide-associated occupations and risk of myeloid leukemia, namely pesticide manufacturing workers and rural pesticide applicators (Van Maele-Fabry et al. 2007b).

Currently, Brazil is one of the major consumers of pesticides in the world (Schreinemachers and Tipraqsa 2012). According to the Brazilian Council for Food and Nutritional Security, while pesticide sales grew 93% in the world between 2000 and 2010, they grew 190% in Brazil, in the same period (CONSEA 2012). The same report also showed that almost half of pesticides used in Brazil were extremely (Class I) or Highly (Class II) toxic, and that Brazil shared 15% of the world's pesticide market in 2010 with around US\$ 7.2 billion in pesticide sales. In 2011, pesticide sales in Brazil totaled US\$ 8.5 billion (Santos 2012), which represented 19% of the world's market (IBAMA, 2015).

Due to the above picture of pesticide use in Brazil, it is highly important to investigate the role of occupational and environmental exposures of Brazilian farmers to pesticides in the development of chronic diseases such as leukemia. Thus, this study aimed to estimate the association between farming, pesticide use, and death from leukemia in Rio de Janeiro, Brazil.

## **Methods**

### *Data source and study design*

We carried out a population-based case–control study based on death certification in Rio de Janeiro State. Data were retrieved from the Brazilian Mortality Information System (DATASUS, 2010). The information about occupations was classified according to Brazilian Classification of Occupations, which is derived from the International Standard Classification of Occupations (ISCO-88) (Brazil 2002; ISCO 2003). Data on pesticide expenditure in 1985, for each city in the State of Rio de Janeiro, were obtained from the Brazilian Agricultural Census (Brazil 1985). Pesticide expenditure in 1985 for each city was then divided by the respective number of inhabitants in the same year to obtain the per-capita expenditure on pesticides.

### *Study population*

Cases and controls were men, over 19 years old who lived in the State of Rio de Janeiro and died between 2006 and 2010. In addition to that, cases were individuals who died by Lymphoid (LL; ICD10: C91) or Myeloid (ML; ICD10: C92) leukemia. Causes of death were classified according to 10th revision of the International Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD10) (WHO 1995).

Controls were selected among those who died from any other cause of death but neoplasm. Cases and controls were excluded when they had no information about city of residence, occupation or if occupation was registered as retired, students, or unidentifiable. Finally, we excluded all deaths by symptoms, signs and abnormal clinical and laboratory findings, not elsewhere classified (ICD10: R00-R99).

According to above criteria, we identified 1,248 cases of death by leukemia, from which 758 were excluded due to missing of occupational information. Among the 314,820 eligible controls, 165,890 (52.7%) were also excluded due to missing of occupational information, 46,009 (14.6%) were excluded due to death by neoplasm, and 8,580 (2.7%) were excluded due to death by symptoms, signs and abnormal clinical and laboratory findings, not elsewhere classified. Thus, all analyses were conducted among 490 cases and 94,341 controls.

### *Study variables*

Dependent variables were death by Leukemia (yes or no), stratified in LL and ML. Independent variables were: age (30-39, 40-49, 50-59, 60-69, 70-79, and 80+); years of study (1-3, 4-7, 8-11, and 12+), race/skin color (white and non-white). Exposure to farming activities was evaluated by selecting agricultural occupations reported on death records. In addition, Rio de Janeiro cities were grouped based on the quartile of the *per capita* pesticide expenditure. The first quartile grouped those cities with the lowest per capita expenditure.

### *Statistical analysis*

Differences in proportions of dependent and independent variables across cases and controls were verified by Chi-square ( $\chi^2$ ) test. An unconditional logistic regression analysis was performed to estimate crude (OR<sub>c</sub>) and adjusted (OR<sub>aj</sub>) odds ratio, as well as the respective confidence intervals (95% CI), calculated by the Wald method. The evaluation model was performed by the *Hosmer-Lemeshow* test and the best model was selected by *akaike criterion* (AIC).

We also performed a sensitivity analysis by excluding from the analysis all controls whose death occurred by external causes of morbidity and mortality (ICD10 chapter XX); diseases of the circulatory system (ICD10 chapter IX) and diseases of the respiratory system (ICD10 chapter X). These analyses were performed to evaluate the influence of specific causes of death among controls on the magnitude of the odds ratio.

Finally, Mortality Odds Ratio (MOR) and their 95% CI were calculated as estimates of the association between per-capita expenditure of pesticides and the risk of death by leukemia, according to methods proposed by Miettinen e Wang (1981). Data were analyzed in R software (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; <http://www.r-project.org>).

## **Results**

The majority of cases died by myeloid leukemia (65.7%), followed by the lymphoid subtype (34.3%). Among controls, the main underlying causes of death were: diseases of the circulatory system (ICD10: I00-I99; 35.6%); external causes of morbidity and mortality (ICD10: V01-Y98; 23.9%), diseases of the respiratory system (ICD10: J00-J99;

11.7%), Certain infectious and parasitic diseases (ICD10; A00-B99; 7.5%), endocrine, nutritional and metabolic diseases (ICD10: E00-E90; 6.8%), diseases of the digestive system (ICD10: K00-K93; 6.8%), and other death causes (7.7%).

The median age at death among all leukemia cases was 61 years old. Those who died by lymphoid leukemia died slightly older (64 years old) than the ones who died by the myeloid subtype of the disease (59.5 years older). In the control group, the observed median age at death was 60 years old. According to Table 1, we have not found a statistically significant difference between cases and controls regarding age strata (p-value >0.05). We, however, observed a significant difference between cases (LL and ML) and controls for race/skin color and years of study (p-value < 0.05).

Table 1. Features of cases and controls by specific type of leukemia in Rio de Janeiro from 2006 to 2010.

	Controls		Cases of leukemia			
			Lymphoid		Myeloid	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Total	94341		168		322	
Age						
20-29	8796	9.3	11	6.5	30	9.3
30-39	9095	9.6	18	10.7	37	11.5
40-49	12595	13.4	20	11.9	47	14.6
50-59	17879	19.0	23	13.7	47	14.6
60-69	16530	17.5	31	18.5	60	18.6
70-79	16072	17.0	38	22.6	63	19.6
80 and more	13374	14.2	27	16.1	38	11.8
Occupation						
Non-farmer	89186	94.6	163	97	305	94.7
Farmer	5155	5.4	5	3.0	17	5.3
Race/skin color						
Non-white	44427	47.9	64	38.8	100	31.6
White	48297	52.1	101	61.2	216	68.4
Years of study						
Non	5304	6.5	8	5.5	15	4.9
1 - 3 years	17995	22.2	18	12.3	31	10.1
4 - 7 years	31361	38.7	47	32.2	101	33
8 - 11 years	16057	19.8	33	22.6	75	24.5
12 and more years	10413	12.8	40	27.4	84	27.5

Crude odds ratios of lymphoid and myeloid leukemia mortality are showed in Table 2.

Chances of being white were significantly higher among all cases (all leukemia), and specifically among those cases who died by ML. Likewise, individuals of 70-79 years old were more likely to die by LL, if compared to those who were 20-29 years old. Deaths by LL and ML were also significantly associated to years of study, as those with 12 or years of study were more likely die by either subtype when compared to the illiterates.

Table 2. Crude ORs of lymphoid and myeloid leukemia mortality, between 2006 to 2010, according to the main covariates of the study.

	All Leukemia	Lymphoid Leukemia	Myeloid Leukemia
	CI95% OR	CI95% OR	CI95% OR
<b>Age</b>			
30-39	1.10 (0.74 - 1.62)	1.76 (0.78 - 3.99)	1.13 (0.68 - 1.86)
40-49	1.01 (0.70 - 1.47)	1.47 (0.66 - 3.28)	1.07 (0.66 - 1.71)
50-59	0.85 (0.59 - 1.22)	1.10 (0.50 - 2.44)	0.85 (0.53 - 1.35)
60-69	1.09 (0.77 - 1.54)	1.62 (0.76 - 3.47)	1.08 (0.69 - 1.70)
70-79	1.36 (0.97 - 1.91)	2.19 (1.05 - 4.57)	1.18 (0.76 - 1.84)
80 and more	0.89 (0.61 - 1.29)	1.60 (0.73 - 3.50)	0.83 (0.51 - 1.36)
<b>Occupation</b>			
Farmers	1.09 (0.74 - 1.59)	0.68 (0.28 - 1.66)	1.13 (0.69 - 1.84)
<b>Race/skin color</b>			
White	1.75 (1.46 - 2.11)	1.31 (0.94 - 1.83)	1.97 (1.55 - 2.52)
<b>Years of study</b>			
1 - 3 years	0.68 (0.42 - 1.11)	0.66 (0.29 - 1.52)	0.55 (0.29 - 1.03)
4 - 7 years	1.31 (0.85 - 2.02)	0.99 (0.47 - 2.09)	1.13 (0.66 - 1.95)
8 - 11 years	1.71 (1.10 - 2.68)	1.27 (0.58 - 2.77)	1.62 (0.93 - 2.82)
12 and more	3.04 (1.95 - 4.73)	2.47 (1.15 - 5.29)	2.80 (1.62 - 4.86)

Table 3 shows odds ratios of lymphoid and myeloid leukemia mortality according to the same covariates adjusted by age, race/skin color, education and occupation. Adjusted results confirmed that leukemia mortality risk, especially the myeloid subtype, was significantly elevated among whites, and that individuals with the highest level of education were also at significantly higher risk to die by both subtypes of leukemia. However, the previous find that lymphoid mortality risk was higher among those with 70-79 years old, lost statistical significance after adjustment. In addition, adjusted analysis revealed that farmers were also at significantly higher risk to die by leukemia, mainly the myeloid subtype, (OR: 1.69 95% CI 1.10 – 2.86).

Table 3. Adjusted Odds ratio by age, race/skin color, and years of study, according to specific types of leukemia from 2006 to 2010.

	All Leukemia CI95% OR	Lymphoid Leukemia CI95% OR	Myeloid Leukemia CI95% OR
<b>Age</b>			
30-39	1.09 (0.74 - 1.61)	1.77 (0.78 - 4.01)	1.11 (0.67 - 1.84)
40-49	0.98 (0.67 - 1.43)	1.46 (0.65 - 3.26)	1.01 (0.63 - 1.63)
50-59	0.79 (0.55 - 1.14)	1.07 (0.48 - 2.38)	0.77 (0.48 - 1.23)
60-69	0.98 (0.69 - 1.40)	1.55 (0.72 - 3.35)	0.93 (0.59 - 1.47)
70-79	1.16 (0.82 - 1.64)	2.06 (0.97 - 4.37)	0.94 (0.59 - 1.49)
80 and more	0.68 (0.46 - 1.01)	1.41 (0.63 - 3.15)	0.59 (0.35 - 0.98)
<b>Occupation</b>			
Farmers	1.63 (1.09 - 2.44)	0.87 (0.34 - 2.20)	1.69 (1.10 - 2.86)
<b>Race/skin color</b>			
White	1.47 (1.2 - 1.78)	1.00 (0.69 - 1.44)	1.71 (1.32 - 2.22)
<b>Years of study</b>			
1 - 3 years	0.73 (0.44 - 1.20)	0.68 (0.29 - 1.59)	0.57 (0.30 - 1.09)
4 - 7 years	1.41 (0.89 - 2.23)	1.02 (0.47 - 2.24)	1.17 (0.66 - 2.07)
8 - 11 years	1.81 (1.13 - 2.91)	1.33 (0.59 - 3.02)	1.61 (0.89 - 2.92)
12 and more	3.07 (1.91 - 4.91)	2.46 (1.10 - 5.51)	2.68 (1.49 - 4.84)

The sensitivity analysis (Supplementary table) had not indicated relevant changes in adjusted ORs when we analyzed different compositions of underlying causes of death among controls. Finally, the mortality odds ratios of lymphoid and myeloid leukemia according to the quartile of per capita pesticide expenditure in 1985 are shown in Figure 1. For ML, cities in the highest quartile of pesticide expenditure showed elevated, though not statistically significant, MOR compared to those in the lowest pesticide expenditure group (MOR: 1.91, 95% CI 0.88 - 4.03) (Figure 1).

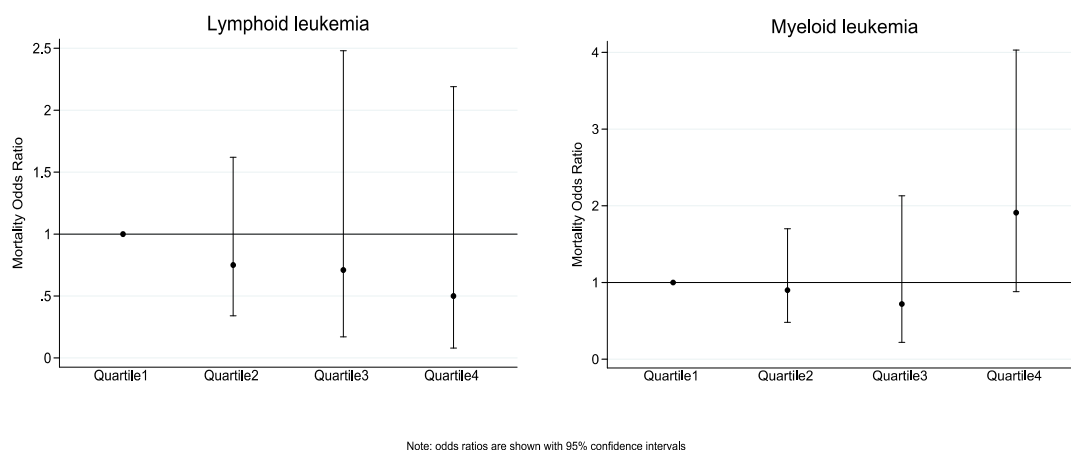


Figure 1. Death by leukemia and pesticide expenditure in 1996 according to quartile. Axis Y shows the Mortality Odds Ratio and axis X pesticide expenditure in 1996 according to quartile.

## Discussion

We found evidence that agricultural work is associated with higher risks of mortality by leukemia, especially the myeloid subtype. In addition, individuals living in cities with higher *per capita* expenditure of pesticides had higher mortality for this particular neoplasm, although a dose-response pattern was not observed. Our results increase the raising body of evidence of an association between farming/pesticide exposure and leukemia condensed in two previously published meta-analyses. Merhi and colleagues (2007b) performed a meta-analysis of 13 case-control studies published between 1990 and 2005 that aimed to investigate the occurrence of hematopoietic cancer in pesticides related occupation. They observed an increased combined risk for leukemia (Meta-OR: 1.35; 95% CI: 0.90-2.0). Van Maele-Fabry and colleagues (2007) also observed an elevated combined risk (meta-RR; 2.14; 95% CI; 1.39-3.31) in a meta-analysis that included 17 cohorts and 16 case-controls studies published from 1979 to 2005.

The association between farming and leukemia has been subject of investigation for many researchers worldwide. In Netherlands, a cohort of licensed herbicide applicators performed by Swaen and colleagues (2004) found an increased risk of all leukemia SMR 130.4; 95%CI: 26.2–374.2, but not statistically significant. In New Zealand, a population-based case-control study investigated the role of occupations on leukemia mortality and the authors observed that farmers had a higher chance to die by leukemia, regardless of working in fruit growing (OR 2.62; 95% CI 1.51 to 4.55) or horticulture (OR 3.14; 95%



CI 1.18 to 8.40) (McLean et al. 2009). A hospital-based case-control study in an agricultural region of Greece has investigated the relationship between exposure to pesticides and hematopoietic neoplasms. Those who were exposed to pesticides had an increased risk of leukemia (OR; 2.05; 95% CI 1.02-4.12) (Kokouva et al. 2011).

Since 90's, the USA has been carrying out the largest cohort of agricultural workers and their spouses, called the Agricultural Health Study (Alavanja and Bonner, 2012; Alavanja et al., 2013), which aims to investigate the role of pesticide exposure in the development of several diseases, including cancer. Accordingly, Freeman and colleagues (2005) observed that farmers in the highest category of exposure to the organophosphate (OP) insecticide diazinon showed higher risk to develop leukemia (RR: 3.36; 95% CI 1.08-10.49). Significantly higher risks of leukemia were also observed among farmers of the Agricultural Health Study exposed to the OPs fonofos (RR: 2.67; 95% CI 1.06-6.70) and chlorpyrifos (Mahajan et al., 2006). In addition, exposure to organochlorine insecticides chlordane and heptachlor (Purdue et al., 2007), and alachlor (Lee et al., 2004) were also significantly associated to higher risks of leukemia in the same cohort.

In the present study, we observed a higher risk of mortality by leukemia among individuals registered as white or highly educated in their death certificates. These results may reflect differences in access to the health system. Variation in high quality health care is assumed to explain, in part, the wide range of the tumours in the US population (Curry and Barker, 2009). In addition, according to Wrensch and colleagues (2002) differences associated to ethnicity may be a proxy for socioeconomic status.

Occupational exposure to pesticides was also associated to leukemia in another meta-analysis of 13 case-control studies, though the observed meta-odds ratio of 1.35 did not reach statistical significance (95% CI: 0.90-2.00). Finally, a meta-analysis of 14 cohort studies that evaluated the risk of leukemia among pesticide manufacturing workers estimated an overall meta-rate ratio of 1.43 (95% CI: 1.05-1.94), and specific meta-rate ratios of 1.60 (95% CI: 1.02-2.52) for workers exposed to phenoxy herbicides and 6.99 (95% CI: 1.99-24.90) for the myeloid type of leukemia (Van Maele-Fabry et al., 2007c).

In 2006, the per capita amount of active ingredients in some specific agricultural states in Brazil were 12.3 kg/inhabitant/year in Mato Grosso, 4.7 kg/inhabitant/year in MatoGrosso do Sul, 2.9 kg/inhabitant/year in Goiás, and 1.8 kg/inhabitant/year in Paraná. Taking into account that almost 90% of the used pesticides are handled by agricultural workers, if we divide the used amount of active ingredients only by these workers in the

same states and year, we'll have 98.4, 50.7, 39.6, 16.7 kg/worker/year, respectively. Rio de Janeiro is not one of the main agricultural States in Brazil. In the same 2006, the amount of active ingredients used in the state relative to the general population was 0.07 kg/inhabitant/year. But, again considering only the agricultural workers of the state, this number raises to 6.5 kg/worker/year. Previous study has shown that the relative amount of formulated pesticides used in the State of Rio de Janeiro is much higher than that, and could have reached 56 kg/worker/year (Meyer et al., 2003). These numbers, alongside the fact that Rio de Janeiro's farmers have very low formal education, don't use personal protective equipment, and don't receive appropriate technical assistance (Oliveira-Silva et al., 2001), may imply a scenario of very high pesticide exposure. In fact, Oliveira-Silva and colleagues (2001) showed that 42% of farmers from a typical agricultural city in Rio de Janeiro were highly exposed to organophosphate pesticides and 45% reported symptoms of acute poisoning. In another agricultural region in the State of Rio de Janeiro, prevalence of muscarinic and nicotinic signs and symptoms compatible with organophosphate overexposure was 72.5% and 68.6%, respectively (Araújo et al., 2007).

It's important to highlight that, although a robust study design, case-control studies have some limitations that need to be addressed. First, the present case-control study relied on death certificates as primary data source, and therefore, raises obvious questions about the accuracy of the underlying cause of death. However, Miranda-Filho and colleagues (2014) estimated the positive predictive value of death certificates for leukemia deaths in the State of Rio de Janeiro as 100%. In addition, the proportion of reported deaths by diseases listed in Chapter XVIII of ICD10 (Symptoms signs and abnormal clinical and laboratory examination), between 2006 and 2010, was 4.95%, less than 6% that indicate good quality registry (Franca et al., 2008). Another important aspect of this study refers to the classification of research subjects as farmers versus non-farmers based on mortality data. It was not possible to ensure the period and type of exposure that they were previously submitted. However, other studies conducted in the region suggested that farmers in the area are highly exposed to pesticides (Delgado and Paumgarten, 2004; Peres and Moreira, 2007).

It also important to point that occupation misclassification can be reported into death certificates. However, if such misclassification occurred, it was likely to do so regardless of the underlying cause of death, and indistinctly for cases and controls. In that case, it would be expected a non-differential bias, which may underestimate the risk estimates (Greenland, 1982). It is also relevant to consider that this was a population-based study,

therefore, cases and controls originated from the same study base. This has been suggested to reduce the possibility of selection bias and strengthen the validity of the study (Rothman et al., 2008).

An alternative hypothesis to explain the increased mortality risk from myeloid leukemia among farmers observed in the present study might be a lower mortality for some specific underlying causes of death, such as cardiovascular and respiratory diseases, eventually experienced by the control group (Blair et al., 1992; Blair and Freeman, 2009). To test this hypothesis, we investigated the influence of different disease compositions in the control group on the magnitude of risk estimates. Accordingly, we first removed from control group diseases of the cardiovascular system, then diseases of the respiratory system, and at least we removed deaths by external causes. We found no significant differences in odds ratios estimates, regardless of the disease combination in the control group. These results suggest that lower mortality by specific underlying causes of death among controls is unlikely to explain the higher leukemia mortality risk experienced by the farmers of Rio de Janeiro (Mannetje et al., 2012).

These findings strengthen the hypothesis that occupational exposure to pesticides experienced by farmers may be associated with higher risks of death by myeloid leukemia. Our results also call attention to regions of intensive use of pesticides. In the State of Rio de Janeiro, the major agricultural area is the Serrana region, especially regarding production of fruits, vegetables and flowers. According to the last agricultural census, 7% of the population who lived in Serrana region was farmer. According to IBGE, pesticide expenditure in 1996 represented 50% of all expenditures observed in the state in the same year (IBGE, 2006; Peres and Moreira, 2007). Therefore, it is highly relevant to carry out more robust studies that may include biological markers on individual level, in order to have a better understanding of the role of pesticides on cancer development in Brazil.

## **Conclusion**

Our results showed a positive association between farming and risk of death by myeloid leukemia, but not by lymphoid leukemia, in the State of Rio de Janeiro, Brazil. This result corroborates the important role that environmental factors, such as pesticides, may play in the aetiology of myeloid leukemia. Further studies with incidence cases will provide a better comprehension into etiological research that focuses to the elucidation of environmental and occupational risk factors including pesticides in Brazil.

## References

- ACQUAVELLA, J. et al. Cancer among Farmers: A Meta-Analysis. **Annals of Epidemiology**, v. 8, n. 1, p. 64–74, jan. 1998.
- ADAMSON, D. C. et al. Central nervous system. **Cancer Biomarkers**, v. 9, n. 1, p. 193–210, 1 jan. 2011.
- ALAVA, J. J. et al. DDT in endangered Galapagos sea lions (*Zalophus wollebaeki*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 4, p. 660–671, abr. 2011.
- ALAVANJA, M. C. R.; BONNER, M. R. Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews**, v. 15, n. 4, p. 238–263, 2012.
- ANDROUTSOPOULOS, V. P.; KANAVOURAS, K.; TSATSAKIS, A. M. Role of paraoxonase 1 (PON1) in organophosphate metabolism: implications in neurodegenerative diseases. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 256, n. 3, p. 418–424, 1 nov. 2011.
- ANVISA. Agrotóxicos Agência discute o controle de resíduos no Senado**, 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa>>
- ARAÚJO, A. J. DE et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 115–130, mar. 2007.
- AUTRUP, H. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. **Mutation research**, v. 464, n. 1, p. 65–76, 3 jan. 2000.
- BARR, D. B. et al. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 6, p. 742–748, jun. 2010.
- BELL, D. W. et al. Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. **Science (New York, N.Y.)**, v. 286, n. 5449, p. 2528–2531, 24 dez. 1999.
- BELPOGGI, F. et al. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of ethylene-bis-dithiocarbamate (Mancozeb) in rats. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 982, p. 123–136, dez. 2002.
- BLAIR, A. et al. Clues to cancer etiology from studies of farmers. **Scandinavian journal of work, environment & health**, v. 18, n. 4, p. 209–215, ago. 1992a.
- BLAIR, A. et al. Clues to cancer etiology from studies of farmers. **Scandinavian journal of work, environment & health**, v. 18, n. 4, p. 209–215, ago. 1992b.
- BLAIR, A.; FREEMAN, L. B. Epidemiologic Studies of Cancer in Agricultural Populations: Observations and Future Directions. **Journal of agromedicine**, v. 14, n. 2, p. 125–131, 2009a.

BLAIR, A.; FREEMAN, L. B. Epidemiologic Studies in Agricultural Populations: Observations and Future Directions. **Journal of Agromedicine**, v. 14, n. 2, p. 125–131, 7 maio 2009b.

BOHNEN, N. I.; KURLAND, L. T. Brain tumor and exposure to pesticides in humans: a review of the epidemiologic data. **Journal of the neurological sciences**, v. 132, n. 2, p. 110–121, out. 1995.

BRASIL. **Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. Censo agropecuário 1985, 1985.** Disponível em: <<ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/>>. Acesso em: 4 out. 2010

BRASIL. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. . 1989.

**BRASIL. . Instituto Nacional do Câncer - Estimativas, 2012.**

BRAZIL. **Brazilian Institute of Geography and Statistics). Agricultural census (2006), 2006.** Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>

CALVIELLO, G. et al. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 211, n. 2, p. 87–96, 1 mar. 2006.

CARSON, R. **Silent spring**. 40th anniversary ed., 1st Mariner Books ed ed. Boston: Houghton Mifflin, 2002.

CASTRO, J. S. M.; CONFALONIERI, U. Uso de agrotóxicos no Município de Cachoeiras de Macacu (RJ). **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, n. 2, p. 473–482, abr. 2005.

**CBO. Brazilian Classification of Occupations Ministry of Labor and Employment – Brazil, 2002.** Disponível em: <<http://www.mtecbo.gov.br>>

CHEN, B. et al. Glutathione S-transferase T1 (GSTT1) gene polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of epidemiologic studies. **Digestive diseases and sciences**, v. 55, n. 7, p. 1831–1838, jul. 2010.

COLLOTTA, M.; BERTAZZI, P. A.; BOLLATI, V. Epigenetics and pesticides. **Toxicology**, v. 307, p. 35–41, 10 maio 2013.

CONESA-ZAMORA, P. et al. Polymorphisms in xenobiotic metabolizing genes (EPHX1, NQO1 and PON1) in lymphoma susceptibility: a case control study. **BMC Cancer**, v. 13, n. 1, p. 228, 2013.

CONSEA, 2012. **CONSEA - Council for Food and Nutritional Security. Market and regulation of pesticides. Curitiba, Parana, Brazil, 2012. Available at:**, [s.d.]. Disponível em: <<http://www.consea.pr.gov.br/arquivos/File/ANEXO4AGROTOXICOSCONSEAPR.pdf>>

- COSTA, L. G. et al. Paraoxonase (PON 1) as a biomarker of susceptibility for organophosphate toxicity. **Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals**, v. 8, n. 1, p. 1–12, fev. 2003.
- COSTA, L. G. et al. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. **Toxicology**, v. 307, p. 115–122, maio 2013a.
- COSTA, L. G. et al. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. **Toxicology**, v. 307, p. 115–122, 10 maio 2013b.
- CURRY, W. T.; BARKER, F. G. Racial, ethnic and socioeconomic disparities in the treatment of brain tumors. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 93, n. 1, p. 25–39, maio 2009.
- CURWIN, B. D. et al. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in iowa. **The Annals of occupational hygiene**, v. 51, n. 1, p. 53–65, jan. 2007.
- DE BLEECKER, J. L. Chapter 13 Organophosphate and carbamate poisoning. In: ANDREW G. ENGEL (Ed.). **Handbook of Clinical Neurology**. Neuromuscular Junction Disorders. [s.l.] Elsevier, 2008. v. Volume 91p. 401–432.
- DELGADO, I. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Pesticide use and poisoning among farmers from the county of Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 180–186, fev. 2004.
- DESCATHA, A. et al. Occupational exposures and haematological malignancies: overview on human recent data. **Cancer causes & control: CCC**, v. 16, n. 8, p. 939–953, out. 2005.
- DESCHLER, B.; LÜBBERT, M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. **Cancer**, v. 107, n. 9, p. 2099–2107, 1 nov. 2006.
- DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology**. 9th ed ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
- DIANAT, S. S. et al. Gene polymorphisms and prostate cancer: the evidence. **BJU international**, v. 104, n. 11, p. 1560–1572, dez. 2009.
- DRISCOLL, T. et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 48, n. 6, p. 419–431, 2005.
- EDDLESTON, M. et al. Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticides list. **The Lancet**, v. 360, n. 9340, p. 1163–1167, out. 2002.
- ELKADY, A. et al. Incidence and characteristics of HBV reactivation in hematological malignant patients in south Egypt. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 37, p. 6214–6220, 7 out. 2013.
- FANG, D.-H. et al. Differential effects of paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms on cancer risk: evidence from 25 published studies. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 6, p. 6801–6809, jun. 2012a.

FANG, D.-H. et al. Differential effects of paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms on cancer risk: evidence from 25 published studies. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 6, p. 6801–6809, jun. 2012b.

FERLAY J et al. **GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010**, 2008. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr>>

FERLAY, J. et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013 Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D., **International Journal of Cancer**, v. 132, n. 5, p. 1133–1145, 2013.

FRANCA, E. et al. Evaluation of cause-of-death statistics for Brazil, 2002-2004. **International Journal of Epidemiology**, v. 37, n. 4, p. 891–901, 1 ago. 2008.

FREEMAN, L. E. B. et al. Cancer Incidence among Male Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study Cohort Exposed to Diazinon. **American Journal of Epidemiology**, v. 162, n. 11, p. 1070–1079, 1 dez. 2005a.

FREEMAN, L. E. B. et al. Cancer Incidence among Male Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study Cohort Exposed to Diazinon. **American Journal of Epidemiology**, v. 162, n. 11, p. 1070–1079, 1 dez. 2005b.

GEORGE, J.; SHUKLA, Y. Pesticides and cancer: Insights into toxicoproteomic-based findings. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 12, p. 2713–2722, 18 nov. 2011.

GREENLAND, S. The effect of misclassification in matched-pair case-control studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 116, n. 2, p. 402–406, ago. 1982.

GUYTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 5, p. 490–491, maio 2015.

HERNÁNDEZ, A. F. et al. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene–environment interaction perspective. **Toxicology**, Emerging health issues from chronic pesticide exposure: Innovative methodologies and effects on molecular cell and tissue level. v. 307, p. 95–102, Maio 2013a.

HERNÁNDEZ, A. F. et al. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environment interaction perspective. **Toxicology**, v. 307, p. 95–102, 10 maio 2013b.

HUSZTHY, P. C. et al. In vivo models of primary brain tumors: pitfalls and perspectives. **Neuro-Oncology**, v. 14, n. 8, p. 979–993, ago. 2012.

IARC. **Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Occupational exposures in insecticide application and some pesticides. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Man 1991; 53:179–249.**, [s.d.].

IBGE. **Censo agropecuário municipal**, 1996. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo\\_Agropecuario\\_1995\\_96/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Agropecuario_1995_96/)>



IBGE. **Censo agropecuário municipal**, 2006. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo\_Agropecuario\_1995\_96/>

**ILO. International Labor Organization International Standard Classification of Occupations (ISCO-88)**, 2003. Disponível em: <http://www.ilo.org/stat/lang-en/index.htm>

INABA, H.; GREAVES, M.; MULLIGHAN, C. G. Acute lymphoblastic leukaemia. **Lancet (London, England)**, v. 381, n. 9881, p. 1943–1955, 1 jun. 2013.

IWASAKI, M. et al. Cancer Mortality Among Japanese Immigrants and their Descendants in the State of São Paulo, Brazil, 1999–2001. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 11, p. 673–680, 1 nov. 2004.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food – Results from 2001 to 2010. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 607–616, jun. 2012.

JARMAN, W. M.; BALLSCHMITER, K. From coal to DDT: the history of the development of the pesticide DDT from synthetic dyes till Silent Spring. **Endeavour**, v. 36, n. 4, p. 131–142, dez. 2012.

JEMAL, A. et al. Global cancer statistics. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 61, n. 2, p. 69–90, 2011.

KARASALI, H.; MARAGOU, N. Pesticides and Herbicides: Types of Pesticide. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 319–325.

KELLERBYRNE, J. E.; KHUDER, S. A.; SCHAUB, E. A. Meta-analysis of Leukemia and Farming. **Environmental Research**, v. 71, n. 1, p. 1–10, out. 1995.

KHUDER, S. A. et al. Meta-analysis of Hodgkin's disease among farmers. **Scandinavian journal of work, environment & health**, v. 25, n. 5, p. 436–441, out. 1999.

KHUDER, S. A.; MUTGI, A. B. Meta-analyses of multiple myeloma and farming. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 32, n. 5, p. 510–516, 1997.

KHUDER, S. A.; SCHAUB, E. A.; KELLER-BYRNE, J. E. Meta-analyses of non-Hodgkin's lymphoma and farming. **Scandinavian journal of work, environment & health**, v. 24, n. 4, p. 255–261, ago. 1998.

KOKOUVA, M. et al. Pesticide exposure and lymphohaematopoietic cancers: a case-control study in an agricultural region (Larissa, Thessaly, Greece). **BMC public health**, v. 11, p. 5, 2011.

KOKOUVA, M. et al. Relationship between the paraoxonase 1 (PON1) M55L and Q192R polymorphisms and lymphohaematopoietic cancers in a Greek agricultural population. **Toxicology**, v. 307, p. 12–16, maio 2013.

KWONG, T. C. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. **Therapeutic drug monitoring**, v. 24, n. 1, p. 144–149, fev. 2002.

- LEE, E. et al. Proportionate mortality of crop and livestock farmers in the United States, 1984-1993. **American journal of industrial medicine**, v. 42, n. 5, p. 410–420, nov. 2002.
- LIMA, E. P. et al. Pesticide exposure and its repercussion in the health of sanitary agents in the State of Ceará, Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2221–2230, dez. 2009.
- LINCZ, L. F. et al. Xenobiotic gene polymorphisms and susceptibility to multiple myeloma. **Haematologica**, v. 89, n. 5, p. 628–629, maio 2004.
- MACKNESS, B. et al. Paraoxonase and susceptibility to organophosphorus poisoning in farmers dipping sheep. **Pharmacogenetics**, v. 13, n. 2, p. 81–88, fev. 2003.
- MAHAJAN, R. et al. Fonofos exposure and cancer incidence in the agricultural health study. **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 12, p. 1838–1842, dez. 2006.
- MANNETJE, A. 'T; ENG, A.; PEARCE, N. Farming, growing up on a farm, and haematological cancer mortality. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 69, n. 2, p. 126–132, 1 fev. 2012.
- MCLEAN, D. et al. Leukaemia and occupation: a New Zealand Cancer Registry-based case–control Study. **International Journal of Epidemiology**, v. 38, n. 2, p. 594–606, 1 abr. 2009.
- MERHI, M. et al. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. **Cancer causes & control: CCC**, v. 18, n. 10, p. 1209–1226, dez. 2007a.
- MERHI, M. et al. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. **Cancer causes & control: CCC**, v. 18, n. 10, p. 1209–1226, dez. 2007b.
- MEYER, A. et al. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Environmental research**, v. 93, n. 3, p. 264–271, nov. 2003.
- MIETTINEN, O. S.; WANG, J. D. An alternative to the proportionate mortality ratio. **American Journal of Epidemiology**, v. 114, n. 1, p. 144–148, 1981.
- MIRANDA FILHO, A. L.; MEYER, A.; MONTEIRO, G. T. R. Validação da causa básica de óbito por neoplasias selecionadas na microrregião Serrana, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 22, n. 3, p. 246–251, 2014.
- OHGAKI, H. Epidemiology of brain tumors. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 472, p. 323–342, 2009.
- OLIVEIRA-SILVA, J. J. et al. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130–135, abr. 2001.
- PERES, F.; MOREIRA, J. C. **E veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz, 2003.

- PERES, F.; MOREIRA, J. C. Health, environment, and pesticide use in a farming area in Rio de Janeiro State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. S612–S621, 2007.
- PLIMMER, J. R. Chapter 2 - Chemistry of Pesticides. In: ROBERT I. KRIEGER; WILLIAM C. KRIEGER (Eds.). . **Handbook of Pesticide Toxicology (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2001. p. 95–107.
- POPE, C. N. Organophosphorus Pesticides: Do They All Have the Same Mechanism of Toxicity? **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 2, n. 2, p. 161–181, 1999.
- POVEY, A. C. Gene-environmental interactions and organophosphate toxicity. **Toxicology**, v. 278, n. 3, p. 294–304, 30 dez. 2010.
- PRESTON-MARTIN, S.; MACK, W.; HENDERSON, B. E. Risk factors for gliomas and meningiomas in males in Los Angeles County. **Cancer research**, v. 49, n. 21, p. 6137–6143, 1 nov. 1989.
- PURDUE, M. P. et al. Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the Agricultural Health Study. **International journal of cancer. Journal international du cancer**, v. 120, n. 3, p. 642–649, 1 fev. 2007.
- R. ALENTEJANO, P.; ALENTEJANO, P. R. R. A evolução do espaço agrário Fluminense. **GEOgraphia**, v. 7, n. 13, p. 7, 3 fev. 2010.
- RAUNIO, H. et al. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility-a review. **Gene**, v. 159, n. 1, p. 113–121, 14 jun. 1995.
- REBBECK, T. R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, v. 6, n. 9, p. 733–743, set. 1997.
- REDAELLI, A. et al. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukaemia. **European Journal of Cancer Care**, v. 13, n. 3, p. 279–287, jul. 2004.
- RIBEIRO, M. G. et al. Occupational safety and health practices among flower greenhouses workers from Alto Tietê region (Brazil). **Science of The Total Environment**, v. 416, p. 121–126, 1 fev. 2012.
- ROBERTS, D. M.; AARON, C. K. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. **BMJ**, v. 334, n. 7594, p. 629–634, 24 mar. 2007.
- ROBINSON, C. F. et al. Overview of the National Occupational Mortality Surveillance (NOMS) system: Leukemia and acute myocardial infarction risk by industry and occupation in 30 US states 1985-1999, 2003-2004, and 2007: Overview of the National Occupational Mortality. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 58, n. 2, p. 123–137, fev. 2015.

- RODRIGUEZ-ABREU, D.; BORDONI, A.; ZUCCA, E. Epidemiology of hematological malignancies. **Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO**, v. 18 Suppl 1, p. i3–i8, jan. 2007.
- ROHRBACHER, M.; HASFORD, J. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML). **Best practice & research. Clinical haematology**, v. 22, n. 3, p. 295–302, set. 2009.
- ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern epidemiology**. Philadelphia: Wolters Kluwer / Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
- SCHREINEMACHERS, P.; TIPRAQSA, P. Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. **Food Policy**, v. 37, n. 6, p. 616–626, dez. 2012.
- SCHWARTZBAUM, J. A. et al. Epidemiology and molecular pathology of glioma. **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 2, n. 9, p. 494–503, 2006.
- SEARLES NIELSEN, S. et al. Risk of brain tumors in children and susceptibility to organophosphorus insecticides: the potential role of paraoxonase (PON1). **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 7, p. 909–913, jul. 2005.
- SNYDER, R. Leukemia and Benzene. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, n. 12, p. 2875–2893, 14 ago. 2012.
- US EPA, O. OF P. P. **EPA: Pesticides - Evaluating Pesticides for Carcinogenic Potential**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/health/cancerfs.htm>>. Acesso em: 4 out. 2013.
- VAN MAELE-FABRY, G. et al. Risk of leukaemia among pesticide manufacturing workers: a review and meta-analysis of cohort studies. **Environmental Research**, v. 106, n. 1, p. 121–137, jan. 2008.
- VAN MAELE-FABRY, G.; DUHAYON, S.; LISON, D. A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. **Cancer causes & control: CCC**, v. 18, n. 5, p. 457–478, jun. 2007a.
- VAN MAELE-FABRY, G.; DUHAYON, S.; LISON, D. A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. **Cancer causes & control: CCC**, v. 18, n. 5, p. 457–478, jun. 2007b.
- VAN MAELE-FABRY, G.; DUHAYON, S.; LISON, D. A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. **Cancer causes & control: CCC**, v. 18, n. 5, p. 457–478, jun. 2007c.
- VAN MAELE-FABRY, G.; WILLEMS, J. L. Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. **Occupational and environmental medicine**, v. 60, n. 9, p. 634–642, set. 2003.
- VIÉL, J. F. et al. Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. **Archives of environmental health**, v. 53, n. 1, p. 65–70, fev. 1998.

WAGGONER, J. K. et al. Mortality in the Agricultural Health Study, 1993-2007. **American Journal of Epidemiology**, v. 173, n. 1, p. 71–83, 1 jan. 2011.

WALKER, K. R.; RICCIARDONE, M. D.; JENSEN, J. Developing an international consensus on DDT: a balance of environmental protection and disease control. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 206, n. 4–5, p. 423–435, 2003.

WHO. **World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Health-related Problems - 10th Revision – 2nd edition**, 1995.

Disponível em: <<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en>>

WRENSCH, M. et al. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. **Neuro-oncology**, v. 4, n. 4, p. 278–299, out. 2002.

XU, W.; WANG, X.; CAI, Z. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 790, p. 1–13, 6 ago. 2013.

ZHANG, X. et al. Genome-wide study of DNA methylation alterations in response to diazinon exposure in vitro. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, n. 3, p. 959–968, nov. 2012.

Supplemental table. Adjusted Odds ratio by age, race/skin color, and years of study, according to control group from 2006 to 2010.

	ICD IX excluded*	ICD10 – X excluded**	ICD – XX excluded***
	ORadj (IC95%)	ORadj (IC95%)	ORadj (IC95%)
<b>Occupation</b>			
Farmers	1.67 (1.12 - 2.51)	1.64 (1.1 - 2.47)	1.65 (1.09 - 2.48)
<b>Race/skin color</b>			
White	1.46 (1.20 - 1.78)	1.48 (1.22 - 1.80)	1.45 (1.19 - 1.76)
<b>Years of study</b>			
1 - 3 years	0.72 (0.43 - 1.18)	0.72 (0.44 - 1.19)	0.74 (0.45 - 1.22)
4 - 7 years	1.39 (0.88 - 2.19)	1.39 (0.88 - 2.20)	1.52 (0.96 - 2.40)
8 - 11 years	1.79 (1.11 - 2.88)	1.79 (1.12 - 2.88)	1.99 (1.23 - 3.19)
12 and more	3.08 (1.92 - 4.93)	3.03 (1.89 - 4.86)	3.11 (1.94 - 4.99)

\*Deaths from diseases of the circulatory system were excluded; \*\*Deaths from diseases of the respiratory system were excluded; and \*\*\*Deaths from external causes of morbidity and mortality were excluded

## **8. EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS E NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS: resultados preliminares de um estudo caso-controle de base hospitalar**

Os resultados a seguir são uma análise preliminar de dados referentes às neoplasias hematológicas do projeto “Exposições ambientais e câncer nos municípios de Teresópolis e Petrópolis, Rio de Janeiro”. Este projeto foi aprovado pela FAPERJ no final do ano de 2013 e tendo recebido efetivamente os recursos em fevereiro de 2015.

Inicialmente foi realizado o contato com as instituições de saúde do município de Petrópolis e Teresópolis a fim de convidá-las a participar do projeto. Sua avaliação pelas direções dessas instituições e/ou por seus comitês de ética em pesquisa revelou-se um processo demorado, gerando um atraso no início dos trabalhos.

Ao mesmo tempo, foram contatadas instituições de ensino superior dos mesmos municípios para identificar graduandos interessados em atuar como entrevistadores no projeto.

### **Sujeitos e métodos**

#### *População de estudo*

O projeto matriz, acima mencionado, é um estudo caso-controle de base hospitalar, que se encontra em andamento na região Serrana do estado do Rio de Janeiro. Os casos e controles são indivíduos maiores de 18 anos de idade, de ambos os sexos, residentes há pelo menos dois anos na região Serrana do Rio de Janeiro.

Nessa tese, foram analisados os dados coletados no período compreendido entre dezembro de 2014 e março de 2016. Os casos foram recrutados no Centro de Tratamento em Oncologia, sendo considerados apenas os indivíduos que tiveram confirmação diagnóstica laboratorial de neoplasia hematológica (leucemia, linfoma ou mieloma). Os controles foram indivíduos internados no Hospital Alcides Carneiro por outras causas que não câncer.

Os casos e os controles foram entrevistados com um questionário estruturado que incluiu informações demográficas, histórico de residência, exposição residencial e ocupacional a pesticidas, histórico ocupacional, história familiar de câncer além de hábitos de tabagismo e etilismo.

Tendo em vista um nível de confiança de 95%, um poder de 80%, um risco relativo estimado em 2,0, uma prevalência de exposição a agrotóxicos na população geral de 20% e a seleção de dois controles para cada caso, estimou-se um tamanho amostral de pelo menos 100 casos (compreendendo indivíduos com diagnóstico de câncer de cérebro, esôfago, estômago, mama, leucemia ou linfoma) e 400 controles, no projeto matriz.

#### *Crítérios de exclusão*

Foram critérios de exclusão na série de casos ou de controles pessoas com: história progressiva de câncer, estágios terminais de doença ou que apresentassem comprometimento cognitivo que inviabilizasse a comunicação ou o entendimento das perguntas do questionário de pesquisa. No processo de seleção de controles, era critério de exclusão os pacientes internados para tratamento de câncer ou por sintomas potencialmente associados à clínica das neoplasias malignas em estudo (tais como distúrbios no sistema nervoso central e doenças genéticas).

#### *Treinamento dos entrevistadores*

A partir do contato com instituições de ensino superior, foram selecionados cinco estudantes universitários para identificar, selecionar e entrevistar casos e controles. Eles passaram por um treinamento teórico-prático, só sendo incorporados ao projeto quando estavam bem preparados. Este treinamento teve como principal objetivo ensinar noções de comportamento em entrevistas e dos aspectos específicos do questionários utilizado para coleta dos dados

#### *Organização e procedimentos para coleta de dados*

Após o treinamento, as seguintes atividades estão sendo realizadas pelos entrevistadores: identificar os potenciais casos e controles, avaliar critérios de inclusão e exclusão, obter a concordância dos participantes e sua assinatura no (TCLE), realizar a entrevista completando o questionário e orientar sobre a coleta de sangue.

A equipe de coordenação do projeto se encarregou de executar a logística de deslocamento desse material, com seu traslado para a Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ. Nela, os questionários estão sendo digitados e arquivados na sala da pesquisadora responsável pelo projeto matriz e o material biológico está sendo



armazenado no Laboratório de Epidemiologia do Câncer da Escola Nacional de Saúde Pública para posterior análise.

### *Variáveis do estudo*

A distribuição de casos e controles foi avaliada de acordo com as variáveis: sexo (masculino e feminino); idade em faixas etárias por decênios; raça/cor da pele; escolaridade em anos de estudo; estado marital. A classificação dos expostos a pesticidas de uso agrícola e/ou residencial foi realizada de acordo com o relato do paciente (sim e não). Por fim, as variáveis de consumo de álcool e tabaco foram categorizadas da seguinte maneira: nunca (bebeu/fumou), ainda (bebe/fuma) e somente no passado (bebeu/fumou)

### *Análise estatística*

Foi realizada uma análise descritiva das frequências das variáveis de estudo segundo casos e controles e suas diferenças foram testadas pelo qui-quadrado de *Pearson* ( $\chi^2$ ). Também foi estimado modelo de regressão logística não condicional e sua razão de chance (Odds Ratio), com intervalo de confiança com 95%, entre a exposição a agrotóxico e neoplasias hematológicas. A seleção do modelo foi realizada pelo teste de *Hosmer-Lemeshow*. As análises foram realizadas no software R.

## **Resultados**

No período de estudo foram identificados e entrevistados 30 casos de neoplasias hematológicas, sendo 23 linfomas, 5 leucemias e 2 mielomas. Também foram incluídos nessa análise 55 controles hospitalares. A idade mediana para os casos foi de 59 anos e para os controles 54 anos de idade. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre casos e controles na frequência por sexo. Em relação aos casos, 65,5% estava na faixa etária superior a 50 anos de idade, por sua vez, nos controles essa proporção representou 59,3%. Tanto em casos quanto em controles, os indivíduos com cor da pele branca representaram maior proporção, mas com diferença estatisticamente significativa, assim como para a escolaridade (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição das características de casos e controles, na região Serrana do Rio de Janeiro, entre 2015 e 2016.

Variáveis	Caso		Controle		valor de p
	N	%	N	%	
<b>Sexo</b>					
Masculino	14	46,7	28	51,9	0,81
Feminino	16	53,3	26	48,1	
<b>Idade</b>					
18 - 29 anos	3	10,3	2	3,7	0,30
20 - 39 anos	3	10,3	5	9,3	
40 - 49 anos	4	13,8	15	27,8	
50 - 59 anos	9	31,0	9	16,7	
60 - 69 anos	4	13,8	15	27,8	
70 - 79 anos	6	20,7	7	13,0	
80 e mais anos	0	0,0	1	1,7	
<b>Raça/cor da pele</b>					
Branco	25	86,2	32	58,2	0,03
Mulato/pardo	2	6,9	11	20,0	
Negro	2	6,9	12	21,8	
<b>Escolaridade</b>					
Nenhuma/Fundamental	6	20,0	28	50,9	>0,001
Ensino médio	12	40,0	22	40,0	
Ensino superior	12	40,0	5	9,1	
<b>Estado marital</b>					
Solteiro	8	26,7	18	32,7	0,92
Casado/vive junto	14	46,7	25	45,5	
Separado	3	10,0	5	9,1	
Viuvo	5	16,7	7	12,7	

A Tabela 2 apresenta as proporções de indivíduos com relato de exposição a pesticidas de uso residencial e aplicações destinadas à agricultura, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas em casos e controles. Também é possível observar as proporções do relato de consumo de álcool e tabaco. Não se observou diferenças estatisticamente significativas entre casos e controles para hábito de consumo de bebida alcoólica e de tabagismo.

A Tabela 3 apresenta o modelo de regressão logística, com a Odds Ratio e seus intervalos 95% de confiança em homens e mulheres.

Tabela 2. Descrição das características de casos e controles, na região Serrana do Rio de Janeiro, entre 2015 e 2016

Variáveis	Caso	Controle	valor de
-----------	------	----------	----------

	N	%	n	%	p
Aplicação de pesticida na residência					
Sim	12	40,0	31	56,4	0,99
Não	18	60,0	24	43,6	
Aplicação de pesticidas na agricultura					
Sim	3	10,0	5	9,1	0,99
Não	27	90,0	50	90,9	
Consumo de álcool					
Nunca bebeu	9	29,0	14	25,5	0,42
Ainda bebe	9	29,0	14	25,5	
Somente no passado	13	42,0	27	49,0	
Consumo de tabaco					
Nunca fumou	13	52,4	27	49,1	0,92
Fumante	3	9,5	7	12,7	
Somente no passado	12	38,1	21	38,2	

Tabela 3. Modelos de regressão logística Odds Ratio e Intervalo de Confiança 95%.

Variáveis	OR bruta	IC95%
Uso de pesticidas agrícolas		
Sim	1,13	0,25 - 5,11
Uso de pesticidas residencial		
Sim	1,05	0,42 - 2,62
Sexo		
Feminino	0,88	0,31 - 2,47
Idade		
40 - 49 anos	0,20	0,02 - 2,03
50 - 59 anos	0,67	0,07 - 6,11
60 - 69 anos	0,27	0,03 - 2,53
70 - 79 anos	0,71	0,07 - 6,92
80 e mais anos	-	-
Raça/cor da pele		
Mulato/pardo	0,17	0,02 - 1,40
Negro	0,30	0,06 - 1,52
Escolaridade		
Ensino médio	2,45	0,73 - 8,25
Ensino superior	5,40	1,13 - 25,81

É importante destacar que a região Serrana concentra a maior proporção de indivíduos ocupados da atividade agrícola, cerca de 10% da população ocupacionalmente ativa. Portanto, é possível que o aumento da amostra tenha um impacto positivo nos intervalos de confiança dessa associação.

Vale notar que este estudo de base hospitalar é o primeiro a abordar esse grave problema de saúde nessa região de intensa atividade agrícola. Somente a continuidade desse trabalho irá permitir uma análise com um número maior de casos e controles, possibilitando estimativas mais robustas.

Com relação aos limites desse estudo, primeiramente trata-se de uma análise preliminar de um estudo que continua a recrutar casos e controles, obviamente a amostra reduzida não permite estimativas de risco acuradas.

Os resultados apresentam limitações como, por exemplo, o tamanho da amostra, e as diferenças observadas entre a distribuição de casos e controles no que diz respeito à escolaridade. Uma possível razão para esta diferença se deve ao fato de que a instituição de recrutamento dos casos contempla atendimento ao Sistema Único de Saúde (SUS) e também à Saúde Suplementar, enquanto que na de recrutamento dos controles o atendimento é majoritariamente pelo SUS. Sendo essa explicação verdadeira, será enfrentada com a ampliação das instituições de recrutamento dos controles, objetivando maior representatividade dos níveis de escolaridade, possibilitando uma análise estratificada.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa é continuidade de um esforço no sentido de entender o papel da exposição aos pesticidas e seus impactos na saúde da população à luz da realidade brasileira. Não há dúvidas sobre a importância da região Serrana para o abastecimento de frutas, verduras e flores em toda a região metropolitana do Rio de Janeiro, sendo assim, é de grande relevância os aspectos relacionados aos problemas causados pelo uso de pesticidas na agricultura e o seu constante monitoramento é necessário.

No presente estudo, foi possível constatar que as taxas de mortalidade por câncer de cérebro em maiores de 18 anos na região Serrana são crescentes e maiores em magnitude quando comparadas as taxas de mortalidade da região metropolitana. Além do mais, as novas gerações apresentaram uma maior magnitude de risco quando comparadas com as gerações anteriores ao ano de 1945. Tais evidências sugerem que as regiões de intensa atividade agrícola podem contribuir para o incremento da mortalidade por câncer de cérebro em sua população. No entanto, não se pode afastar hipóteses alternativas de outras exposições ambientais como, por exemplo, a agentes biológicos em áreas agrícolas e, também, o acesso dos pacientes aos sistemas de saúde, que pode ser pior para indivíduos residentes nessas regiões.

Um destaque deve ser dado ao fato de que agricultores apresentaram maior chance de mortalidade por leucemias mieloides em relação ao grupo de indivíduos não agricultores. Tal evidência corrobora o que se tem observado em nível internacional e aponta a necessidade de se continuar estudando as neoplasias hematológicas como um todo e sua relação com o uso de pesticidas e outras exposições ambientais. Contudo há também de se citar as limitações inerentes ao desenho de estudo ecológico. Independentemente das limitações, tais resultados apontam a necessidade da continuidade de estudos em nível individual.

O capítulo 8 apresentou os resultados preliminares do projeto “Exposições ambientais e câncer na região Serrana”, no que diz respeito aos dados referentes às neoplasias hematológicas. A coleta de dados deste estudo foi iniciada em dezembro de 2014 e seguirá até 2018. Até o presente momento, os resultados corroboram os achados e apontam uma associação positiva, embora sem significância estatística, entre a exposição a pesticidas e neoplasias hematológicas. É preciso pontuar que a continuidade do projeto levará a uma maior amostra, permitindo uma análise de forma estratificada e uma estimativa mais precisa da real magnitude dessa associação, assim como efeito de múltiplas exposições, além da avaliação de sua duração, intensidade e frequência.

Em uma perspectiva, é preciso se investir na continuidade dessa pesquisa, assim como no estudo da interação entre fatores ambientais e genéticos no desenvolvimento das neoplasias hematológicas. Não obstante, os resultados preliminares apontam um cenário de atenção em relação à saúde dos agricultores, sugerindo a necessidade do estabelecimento de programas com foco na redução da exposição da população aos pesticidas e aumento da percepção do risco de seu uso.

## REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, M. et al. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, v. 10, n. 6, p. RA141-147, jun. 2004.
- ACQUAVELLA, J. et al. Cancer among Farmers: A Meta-Analysis. *Annals of Epidemiology*, v. 8, n. 1, p. 64–74, jan. 1998.
- ADAMSON, D. C. et al. Central nervous system. *Cancer Biomarkers*, v. 9, n. 1, p. 193–210, 1 jan. 2011.
- ALAVA, J. J. et al. DDT in endangered Galapagos sea lions (*Zalophus wollebaeki*). *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 4, p. 660–671, abr. 2011.
- ALAVANJA, M. C. R.; BONNER, M. R. Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews*, v. 15, n. 4, p. 238–263, 2012.
- ALAVANJA, M. C. R.; HOPPIN, J. A.; KAMEL, F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annual Review of Public Health*, v. 25, p. 155–197, 2004.
- ANDROUTSOPOULOS, V. P.; KANAVOURAS, K.; TSATSAKIS, A. M. Role of paraoxonase 1 (PON1) in organophosphate metabolism: implications in neurodegenerative diseases. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 256, n. 3, p. 418–424, 1 nov. 2011.
- ANVISA. Agrotóxicos Agência discute o controle de resíduos no Senado, 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa>>
- AUTRUP, H. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutation research*, v. 464, n. 1, p. 65–76, 3 jan. 2000.
- BARR, D. B. et al. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environmental health perspectives*, v. 118, n. 6, p. 742–748, jun. 2010.
- BAYNES, J. W.; THORPE, S. R. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, v. 48, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 1999.
- BELL, D. W. et al. Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science (New York, N.Y.)*, v. 286, n. 5449, p. 2528–2531, 24 dez. 1999.
- BELPOGGI, F. et al. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of ethylene-bis-dithiocarbamate (Mancozeb) in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 982, p. 123–136, dez. 2002.
- BLAIR, A. et al. Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scandinavian journal of work, environment & health*, v. 18, n. 4, p. 209–215, ago. 1992a.

- BLAIR, A. et al. Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scandinavian journal of work, environment & health*, v. 18, n. 4, p. 209–215, ago. 1992b.
- BLAIR, A.; FREEMAN, L. B. Epidemiologic Studies of Cancer in Agricultural Populations: Observations and Future Directions. *Journal of agromedicine*, v. 14, n. 2, p. 125–131, 2009.
- BOHNEN, N. I.; KURLAND, L. T. Brain tumor and exposure to pesticides in humans: a review of the epidemiologic data. *Journal of the neurological sciences*, v. 132, n. 2, p. 110–121, out. 1995.
- BOLOGNESI, C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research*, v. 543, n. 3, p. 251–272, jun. 2003.
- BRASIL. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. . 1989.
- BRASIL. . Instituto Nacional do Câncer - Estimativas, 2012.
- BRASIL, 2011. INCA - Ações e Programas - Agenda Estratégica. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes\\_programas/site/home/agenda\\_estrategica/apresentacao\\_agenda\\_estrategica](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/agenda_estrategica/apresentacao_agenda_estrategica)>. Acesso em: 23 fev. 2015.
- BRAZIL. Brazilian Institute of Geography and Statistics). Agricultural census (2006), 2006. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>
- BURNS, C. J. et al. Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: review of the epidemiologic and animal studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews*, v. 16, n. 3–4, p. 127–283, 2013.
- CALVIELLO, G. et al. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 211, n. 2, p. 87–96, 1 mar. 2006.
- CANTOR, K. P. et al. Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men in Iowa and Minnesota. *Cancer research*, v. 52, n. 9, p. 2447–2455, 1 maio 1992.
- CARSON, R. *Silent spring*. 40th anniversary ed., 1st Mariner Books ed ed. Boston: Houghton Mifflin, 2002.
- CASTRO, J. S. M.; CONFALONIERI, U. Uso de agrotóxicos no Município de Cachoeiras de Macacu (RJ). *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 10, n. 2, p. 473–482, abr. 2005.
- CHEN, B. et al. Glutathione S-transferase T1 (GSTT1) gene polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Digestive diseases and sciences*, v. 55, n. 7, p. 1831–1838, jul. 2010.



- CHOWDHARY, S.; BHATTACHARYYA, R.; BANERJEE, D. Acute organophosphorus poisoning. *Clinica Chimica Acta*, v. 431, p. 66–76, abr. 2014.
- COLLOTTA, M.; BERTAZZI, P. A.; BOLLATI, V. Epigenetics and pesticides. *Toxicology*, v. 307, p. 35–41, maio 2013a.
- COLLOTTA, M.; BERTAZZI, P. A.; BOLLATI, V. Epigenetics and pesticides. *Toxicology*, v. 307, p. 35–41, 10 maio 2013b.
- CONESA-ZAMORA, P. et al. Polymorphisms in xenobiotic metabolizing genes (EPHX1, NQO1 and PON1) in lymphoma susceptibility: a case control study. *BMC Cancer*, v. 13, n. 1, p. 228, 2013.
- COSTA, L. G. et al. Paraoxonase (PON 1) as a biomarker of susceptibility for organophosphate toxicity. *Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*, v. 8, n. 1, p. 1–12, fev. 2003.
- COSTA, L. G. Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta*, v. 366, n. 1–2, p. 1–13, abr. 2006.
- COSTA, L. G. et al. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. *Toxicology*, v. 307, p. 115–122, maio 2013a.
- COSTA, L. G. et al. Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. *Toxicology*, v. 307, p. 115–122, 10 maio 2013b.
- COSTANTINI, A. S.; MILIGI, L.; VINEIS, P. [An Italian multicenter case-control study on malignant neoplasms of the hematolymphopoietic system. Hypothesis and preliminary results on work-related risks. WILL (Working Group on Hematolymphopoietic Malignancies in Italy)]. *La Medicina del lavoro*, v. 89, n. 2, p. 164–176, abr. 1998.
- CURWIN, B. D. et al. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in iowa. *The Annals of occupational hygiene*, v. 51, n. 1, p. 53–65, jan. 2007.
- DELGADO, I. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Pesticide use and poisoning among farmers from the county of Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 20, n. 1, p. 180–186, fev. 2004.
- DESCATHA, A. et al. Occupational exposures and haematological malignancies: overview on human recent data. *Cancer causes & control: CCC*, v. 16, n. 8, p. 939–953, out. 2005.
- DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology. 9th ed ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
- DIANAT, S. S. et al. Gene polymorphisms and prostate cancer: the evidence. *BJU international*, v. 104, n. 11, p. 1560–1572, dez. 2009.
- DRISCOLL, T. et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. *American Journal of Industrial Medicine*, v. 48, n. 6, p. 419–431, 2005.

- EKSTRÖM-SMEDBY, K. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma--a review. *Acta oncologica* (Stockholm, Sweden), v. 45, n. 3, p. 258–271, 2006.
- ELKADY, A. et al. Incidence and characteristics of HBV reactivation in hematological malignant patients in south Egypt. *World Journal of Gastroenterology*, v. 19, n. 37, p. 6214–6220, 7 out. 2013.
- ERIKSSON, M. et al. Soft-tissue sarcomas and exposure to chemical substances: a case-referent study. *British Journal of Industrial Medicine*, v. 38, n. 1, p. 27–33, 1 fev. 1981.
- ERIKSSON, M. et al. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, v. 123, n. 7, p. 1657–1663, 1 out. 2008.
- FANG, D.-H. et al. Differential effects of paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms on cancer risk: evidence from 25 published studies. *Molecular biology reports*, v. 39, n. 6, p. 6801–6809, jun. 2012a.
- FANG, D.-H. et al. Differential effects of paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms on cancer risk: evidence from 25 published studies. *Molecular Biology Reports*, v. 39, n. 6, p. 6801–6809, jun. 2012b.
- FERLAY, J. et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013 Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D., *International Journal of Cancer*, v. 132, n. 5, p. 1133–1145, 2013.
- FERLAY J et al. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010, 2008. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr>>
- FREEDMAN, A. S.; NADLER, L. M. Non-Hodgkin's Lymphomas. Text. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20925/>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- FREEMAN, L. E. B. et al. Cancer Incidence among Male Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study Cohort Exposed to Diazinon. *American Journal of Epidemiology*, v. 162, n. 11, p. 1070–1079, 1 dez. 2005.
- FRITSCHI, L. et al. Animal-related occupations and the risk of leukemia, myeloma, and non-Hodgkin's lymphoma in Canada. *Cancer causes & control: CCC*, v. 13, n. 6, p. 563–571, ago. 2002.
- FRITSCHI, L. et al. Occupational exposure to pesticides and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *American journal of epidemiology*, v. 162, n. 9, p. 849–857, 1 nov. 2005.
- GEORGE, J.; SHUKLA, Y. Pesticides and cancer: Insights into toxicoproteomic-based findings. *Journal of Proteomics*, v. 74, n. 12, p. 2713–2722, 18 nov. 2011.
- GOLDNER, W. S. et al. Hypothyroidism and Pesticide Use Among Male Private Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study: *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, v. 55, n. 10, p. 1171–1178, out. 2013.

- GUYTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*, v. 16, n. 5, p. 490–491, maio 2015.
- HARDELL, L.; ERIKSSON, M. A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer*, v. 85, n. 6, p. 1353–1360, 15 mar. 1999.
- HARTGE, P. et al. Residential herbicide use and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, v. 14, n. 4, p. 934–937, abr. 2005.
- HERNÁNDEZ, A. F. et al. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene–environment interaction perspective. *Toxicology, Emerging health issues from chronic pesticide exposure: Innovative methodologies and effects on molecular cell and tissue level*. v. 307, p. 95–102, Maio 2013a.
- HERNÁNDEZ, A. F. et al. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environment interaction perspective. *Toxicology*, v. 307, p. 95–102, 10 maio 2013b.
- HOHENADEL, K. et al. Exposure to multiple pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma in men from six Canadian provinces. *International journal of environmental research and public health*, v. 8, n. 6, p. 2320–2330, jun. 2011.
- HUH, J. Epidemiologic overview of malignant lymphoma. *The Korean journal of hematology*, v. 47, n. 2, p. 92–104, jun. 2012.
- HUSZTHY, P. C. et al. In vivo models of primary brain tumors: pitfalls and perspectives. *Neuro-Oncology*, v. 14, n. 8, p. 979–993, ago. 2012.
- IARC. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Occupational exposures in insecticide application and some pesticides. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Man* 1991; 53:179–249., [s.d.].
- IBGE. Censo agropecuário municipal, 1996. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo\\_Agropecuario\\_1995\\_96/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Agropecuario_1995_96/)>
- IBGE. Censo agropecuário municipal, 2006. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo\\_Agropecuario\\_1995\\_96/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Agropecuario_1995_96/)>
- IWASAKI, M. et al. Cancer Mortality Among Japanese Immigrants and their Descendants in the State of São Paulo, Brazil, 1999–2001. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, v. 34, n. 11, p. 673–680, 1 nov. 2004.
- JAFFE, E. S. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon; Oxford: IARC Press ; Oxford University Press (distributor), 2001.
- JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food – Results from 2001 to 2010. *Food Control*, v. 25, n. 2, p. 607–616, jun. 2012.

- JARMAN, W. M.; BALLSCHMITER, K. From coal to DDT: the history of the development of the pesticide DDT from synthetic dyes till Silent Spring. *Endeavour*, v. 36, n. 4, p. 131–142, dez. 2012.
- JEMAL, A. et al. Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 61, n. 2, p. 69–90, 2011.
- JOKANOVIĆ, M. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. *Toxicology Letters*, v. 190, n. 2, p. 107–115, out. 2009.
- JOKANOVIĆ, M.; KOSANOVIĆ, M. Neurotoxic effects in patients poisoned with organophosphorus pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 29, n. 3, p. 195–201, maio 2010.
- KABIR, E. R.; RAHMAN, M. S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 40, n. 1, p. 241–258, jul. 2015.
- KARASALI, H.; MARAGOU, N. Pesticides and Herbicides: Types of Pesticide. In: *Encyclopedia of Food and Health*. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 319–325.
- KELLERBYRNE, J. E.; KHUDER, S. A.; SCHAUB, E. A. Meta-analysis of Leukemia and Farming. *Environmental Research*, v. 71, n. 1, p. 1–10, out. 1995.
- KHUDER, S. A. et al. Meta-analysis of Hodgkin's disease among farmers. *Scandinavian journal of work, environment & health*, v. 25, n. 5, p. 436–441, out. 1999.
- KHUDER, S. A.; MUTGI, A. B. Meta-analyses of multiple myeloma and farming. *American Journal of Industrial Medicine*, v. 32, n. 5, p. 510–516, 1997.
- KHUDER, S. A.; SCHAUB, E. A.; KELLER-BYRNE, J. E. Meta-analyses of non-Hodgkin's lymphoma and farming. *Scandinavian journal of work, environment & health*, v. 24, n. 4, p. 255–261, ago. 1998.
- KING, A. M.; AARON, C. K. Organophosphate and Carbamate Poisoning. *Emergency Medicine Clinics of North America*, v. 33, n. 1, p. 133–151, fev. 2015.
- KOKOUVA, M. et al. Relationship between the paraoxonase 1 (PON1) M55L and Q192R polymorphisms and lymphohaematopoietic cancers in a Greek agricultural population. *Toxicology*, v. 307, p. 12–16, maio 2013.
- LAMBETH, J. D. Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 43, n. 3, p. 332–347, 1 ago. 2007.
- LANG, T. et al. Incidence, case fatality, risk factors of acute coronary heart disease and occupational categories in men aged 30-59 in France. *International Journal of Epidemiology*, v. 26, n. 1, p. 47–57, fev. 1997.
- LEE, E. et al. Proportionate mortality of crop and livestock farmers in the United States, 1984-1993. *American journal of industrial medicine*, v. 42, n. 5, p. 410–420, nov. 2002.
- LESSENGER, J. E. Fifteen years of experience in cholinesterase monitoring of insecticide applicators. *Journal of Agromedicine*, v. 10, n. 3, p. 49–56, 2005.

- LESSENGER, J. E.; REESE, B. E. Rational use of cholinesterase activity testing in pesticide poisoning. *The Journal of the American Board of Family Practice / American Board of Family Practice*, v. 12, n. 4, p. 307–314, ago. 1999.
- LIMA, E. P. et al. Pesticide exposure and its repercussion in the health of sanitary agents in the State of Ceará, Brazil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 14, n. 6, p. 2221–2230, dez. 2009.
- LINCZ, L. F. et al. Xenobiotic gene polymorphisms and susceptibility to multiple myeloma. *Haematologica*, v. 89, n. 5, p. 628–629, maio 2004.
- LÓPEZ-CARILLO, L.; LÓPEZ-CERVANTES, M. Effect of exposure to organophosphate pesticides on serum cholinesterase levels. *Archives of Environmental Health*, v. 48, n. 5, p. 359–363, out. 1993.
- MACKNESS, B. et al. Paraoxonase and susceptibility to organophosphorus poisoning in farmers dipping sheep. *Pharmacogenetics*, v. 13, n. 2, p. 81–88, fev. 2003.
- MAHAJAN, R. et al. Fonofos exposure and cancer incidence in the agricultural health study. *Environmental health perspectives*, v. 114, n. 12, p. 1838–1842, dez. 2006.
- MAMANE, A. et al. Occupational exposure to pesticides and respiratory health. *European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society*, v. 24, n. 136, p. 306–319, jun. 2015.
- MANNETJE, A. 'T; ENG, A.; PEARCE, N. Farming, growing up on a farm, and haematological cancer mortality. *Occupational and Environmental Medicine*, v. 69, n. 2, p. 126–132, 1 fev. 2012.
- MARGNI, M. et al. Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 93, n. 1–3, p. 379–392, dez. 2002.
- MCLEAN, D. et al. Leukaemia and occupation: a New Zealand Cancer Registry-based case-control Study. *International Journal of Epidemiology*, v. 38, n. 2, p. 594–606, 1 abr. 2009.
- MERHI, M. et al. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. *Cancer causes & control: CCC*, v. 18, n. 10, p. 1209–1226, dez. 2007.
- MNIF, W. et al. Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 8, n. 12, p. 2265–2303, 17 jun. 2011.
- MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 268, n. 2, p. 157–177, abr. 2013.
- NAVARANJAN, G. et al. Exposures to multiple pesticides and the risk of Hodgkin lymphoma in Canadian men. *Cancer causes & control: CCC*, v. 24, n. 9, p. 1661–1673, set. 2013.

- OHGAKI, H. Epidemiology of brain tumors. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), v. 472, p. 323–342, 2009.
- OLIVEIRA-SILVA, J. J. et al. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 35, n. 2, p. 130–135, abr. 2001.
- ORSI, L. et al. Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasms among men: results of a French case-control study. *Occupational and Environmental Medicine*, v. 66, n. 5, p. 291–298, maio 2009.
- PEDLOWSKI, M. A. et al. Modes of pesticides utilization by Brazilian smallholders and their implications for human health and the environment. *Crop Protection*, v. 31, n. 1, p. 113–118, jan. 2012.
- PERES, F.; MOREIRA, J. C. *E veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz, 2003.
- PERES, F.; MOREIRA, J. C. Health, environment, and pesticide use in a farming area in Rio de Janeiro State, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 23, p. S612–S621, 2007.
- PLIMMER, J. R. Chapter 2 - Chemistry of Pesticides. In: ROBERT I. KRIEGER; WILLIAM C. KRIEGER (Eds.). *Handbook of Pesticide Toxicology* (Second Edition). San Diego: Academic Press, 2001. p. 95–107.
- POVEY, A. C. Gene-environmental interactions and organophosphate toxicity. *Toxicology*, v. 278, n. 3, p. 294–304, 30 dez. 2010.
- PRESTON-MARTIN, S.; MACK, W.; HENDERSON, B. E. Risk factors for gliomas and meningiomas in males in Los Angeles County. *Cancer research*, v. 49, n. 21, p. 6137–6143, 1 nov. 1989.
- PURDUE, M. P. et al. Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, v. 120, n. 3, p. 642–649, 1 fev. 2007.
- R. ALENTEJANO, P.; ALENTEJANO, P. R. R. A evolução do espaço agrário Fluminense. *GEOgraphia*, v. 7, n. 13, p. 7, 3 fev. 2010.
- RAGOUCY-SEGLER, C. et al. Aldicarb poisoning. *Human & Experimental Toxicology*, v. 19, n. 12, p. 657–662, dez. 2000.
- RAUNIO, H. et al. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility—a review. *Gene*, v. 159, n. 1, p. 113–121, 14 jun. 1995.
- REBBECK, T. R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, v. 6, n. 9, p. 733–743, set. 1997.

- RIBEIRO, M. G. et al. Occupational safety and health practices among flower greenhouses workers from Alto Tietê region (Brazil). *Science of The Total Environment*, v. 416, p. 121–126, 1 fev. 2012.
- RISHER, J. F.; MINK, F. L.; STARA, J. F. The toxicologic effects of the carbamate insecticide aldicarb in mammals: a review. *Environmental Health Perspectives*, v. 72, p. 267–281, 1 jun. 1987.
- RODRIGUEZ-ABREU, D.; BORDONI, A.; ZUCCA, E. Epidemiology of hematological malignancies. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, v. 18 Suppl 1, p. i3–i8, jan. 2007.
- ROSE, R. L. et al. Pesticide metabolism in humans, including polymorphisms. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, v. 31 Suppl 1, p. 156-163–122, 2005.
- SCHREINEMACHERS, P.; TIPRAQSA, P. Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. *Food Policy*, v. 37, n. 6, p. 616–626, dez. 2012.
- SCHWARTZBAUM, J. A. et al. Epidemiology and molecular pathology of glioma. *Nature Clinical Practice Neurology*, v. 2, n. 9, p. 494–503, 2006.
- SEARLES NIELSEN, S. et al. Risk of brain tumors in children and susceptibility to organophosphorus insecticides: the potential role of paraoxonase (PON1). *Environmental health perspectives*, v. 113, n. 7, p. 909–913, jul. 2005.
- SINHASANI, P.; SAMATIWAT, O. Toxicokinetics and safety factors in risk assessment. *The Journal of Toxicological Sciences*, v. 23 Suppl 2, p. 209–213, jul. 1998.
- SLANINOVA, A. et al. A review: oxidative stress in fish induced by pesticides. *Neuro Endocrinology Letters*, v. 30 Suppl 1, p. 2–12, 2009.
- SMITH, M. T. et al. Key Characteristics of Carcinogens as a Basis for Organizing Data on Mechanisms of Carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, v. 124, n. 6, 24 nov. 2015.
- SNYDER, R. Leukemia and Benzene. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 9, n. 12, p. 2875–2893, 14 ago. 2012.
- US EPA, O. OF P. P. EPA: Pesticides - Evaluating Pesticides for Carcinogenic Potential. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/health/cancerfs.htm>>. Acesso em: 4 out. 2013.
- VAN MAELE-FABRY, G.; DUHAYON, S.; LISON, D. A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. *Cancer causes & control: CCC*, v. 18, n. 5, p. 457–478, jun. 2007a.
- VAN MAELE-FABRY, G.; DUHAYON, S.; LISON, D. A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. *Cancer causes & control: CCC*, v. 18, n. 5, p. 457–478, jun. 2007b.

VAN MAELE-FABRY, G.; WILLEMS, J. L. Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. *Occupational and environmental medicine*, v. 60, n. 9, p. 634–642, set. 2003.

VIEL, J. F. et al. Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. *Archives of environmental health*, v. 53, n. 1, p. 65–70, fev. 1998.

WAGGONER, J. K. et al. Mortality in the Agricultural Health Study, 1993-2007. *American Journal of Epidemiology*, v. 173, n. 1, p. 71–83, 1 jan. 2011.

WALKER, K. R.; RICCIARDONE, M. D.; JENSEN, J. Developing an international consensus on DDT: a balance of environmental protection and disease control. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 206, n. 4–5, p. 423–435, 2003.

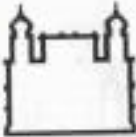

WRENSCH, M. et al. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro-oncology*, v. 4, n. 4, p. 278–299, out. 2002.

XU, W.; WANG, X.; CAI, Z. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 790, p. 1–13, 6 ago. 2013.

ZHANG, X. et al. Genome-wide study of DNA methylation alterations in response to diazinon exposure in vitro. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 34, n. 3, p. 959–968, nov. 2012.



# ANEXO

	<b>Ministério da Saúde</b> <b>FIOCRUZ</b> Fundação Oswaldo Cruz Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca Comitê de Ética em Pesquisa	
---	--	---

Rio de Janeiro, 25 de outubro de 2011.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – CEP/ENSP, constituído nos Termos da Resolução CNS nº 196/96 e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao Protocolo de Pesquisa, conforme abaixo, discriminado:

**PROTOCOLO DE PESQUISA CEP/ENSP - Nº 189/11**  
**CAAE: 0203.0031.000-11**

**Título do Projeto:** "Exposição a agrotóxicos e câncer nos municípios de Teresópolis e Petrópolis, rio de janeiro"

**Classificação no Fluxograma:** III

Será encaminhado à Conep (áreas temáticas especiais) e, portanto, deve aguardar a apreciação final desta para início da execução? Não

**Pesquisadora Responsável:** Gina Torres Rego Monteiro

**Instituição Proponente:** Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – ENSP/FIOCRUZ

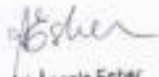
**Data de recebimento no CEP-ENSP:** 20 /07 / 2011

**Data de apreciação:** 10 / 08 / 2011

**Parecer do CEP/ENSP:** Aprovado.

Ressaltamos que a pesquisadora responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (*item VII.13.d, da resolução CNS/MS Nº 196/96*) de acordo com o modelo disponível na página do CEP/ENSP na internet.

Esclarecemos, que o CEP/ENSP deverá ser informado de quaisquer fatos relevantes (incluindo mudanças de método) que alterem o curso normal do estudo, devendo a pesquisadora justificar caso o mesmo venha a ser interrompido.

  
**Prof. Angela Ester**  
Coordenadora  
Comitê de Ética em Pesquisa  
CEP/ENSP

CEP/ENSP

HORA: 15:30

DATA: 01/11/2011

RECEBI: Patrícia Oliveira