

**INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA
COORDENAÇÃO DE ENSINO
ÁREA DE ENSINO MULTIPROFISSIONAL
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA MULTIPROFISSIONAL EM ONCOLOGIA**

ALYTHON ARAUJO CHUNG FILHO

**Alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica
aguda pediátrica: uma revisão sistemática.**

Rio de Janeiro – RJ

2016

ALYTHON ARAUJO CHUNG FILHO

Alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica aguda pediátrica: uma revisão sistemática.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Programa de Residência Multiprofissional em Oncologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, como requisito para conclusão do curso.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Maria do Socorro Pombo-de-Oliveira

Rio de Janeiro – RJ

2016

C559a Chung Filho, Alython Araújo.

Alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica aguda pediátrica: uma revisão sistemática / Alython Araújo Chung Filho. - Rio de Janeiro, 2016.

108 p.: il.

Monografia (Residência Multiprofissional em Oncologia) – Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2016.

Orientador: Maria do Socorro Pombo de Oliveira.

1. Leucemia-Linfoma Linfoblástico de Células Precursoras. 2. Ácido Fólico. 3. Pediatria. I. Oliveira, Maria do Socorro Pombo de (orient.). II. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. III. Título.

CDD 616.99419

Alython Araujo Chung Filho

**Alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica
aguda pediátrica: uma revisão sistemática.**

Avaliado e Aprovado por:

Maria do Socorro Pombo-de-Oliveira

Bruno de Almeida Lopes

Maria Eduarda Leão Diogenes Melo

Data: 25/02/2014

Rio de Janeiro

2016

AGRADECIMENTOS

À coorientadora mais dedicada, solícita e organizada do mundo, Gisele Brisson, que além de ter participado ativamente deste trabalho, me foi uma verdadeira professora durante este ano.

À Dra Socorro, que além de ter contribuído com a orientação neste TCC, me possibilitou integrar o PHOP, realizar treinamento no laboratório e participar de seleções de mestrado e R3.

À Camila, bibliotecária do HC1 pela fundamental contribuição na confecção das estratégias de busca utilizadas neste trabalho.

Aos guerreiros residentes que atravessaram comigo esses dois anos de muita luta, mas também de muito aprendizado.

A meus pais, tão importantes na minha vida, que mesmo à distância nos últimos dois anos, me deram força para superar os desafios.

A meu amor Micaela, que esteve sempre ao meu lado e me apoiou em cada passo que dei.

Aos amigos soteropolitanos, de quem estive fisicamente distante durante a residência, mas fazem parte daquilo que sou hoje.

À luta por justiça social, e mais especificamente, por uma saúde pública, gratuita e de qualidade, pela inspiração durante toda a história de minha formação.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Metabolismo dos folatos.....	19
Figura 2. Diagrama de fluxo da busca e seleção dos estudos para ingestão ou suplementação de folato e risco para LLA.....	27
Figura 3. Efeito da suplementação materna durante a gestação sobre o risco para LLA pediátrica.....	28
Figura 4. Efeito da suplementação materna antes da gestação sobre o risco para LLA pediátrica.....	30
Figura 5. Diagrama de fluxo da busca e seleção dos estudos para suscetibilidade determinada por variantes em genes do ciclo dos folatos.....	37
Figura 6. Efeito do polimorfismo <i>MTHFR</i> C677T sobre o risco para LLA pediátrica.....	39
Figura 7. Efeito do polimorfismo <i>MTHFR</i> C677T sobre o risco para LLA pediátrica.....	41
Figura 8. Efeito do polimorfismo <i>MTHFR</i> A1298C sobre o risco para LLA pediátrica.....	42
Figura 9. Efeito do polimorfismo <i>MTHFR</i> A1298C sobre o risco para LLA pediátrica.....	45
Figura 10. Efeito do polimorfismo <i>MTRR</i> A66G sobre o risco para LLA pediátrica.....	47
Figura 11. Efeito do polimorfismo <i>SLC19A1</i> G80A sobre o risco para LLA pediátrica.....	51
Figura 12. Efeito do polimorfismo <i>TYMS</i> 1494del6 sobre o risco para LLA pediátrica.....	55
Figura 13. Efeito do polimorfismo <i>TYMS</i> 28pb 2R / 3R sobre o risco para LLA pediátrica.....	56
Figura 14. Efeito do polimorfismo <i>MTR</i> A2756G sobre o risco para LLA pediátrica.....	62
Figura 15. Efeito do polimorfismo <i>MTHFR</i> A128C sobre o risco para LLA pediátrica em meninos e meninas.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeito da suplementação materna peri-gestacional com ácido fólico sobre o risco para LLA pediátrica.....	33
Tabela 2. Efeito da suplementação de crianças com ácido fólico sobre o risco para LLA pediátrica.....	35
Tabela 3. Efeito da ingestão alimentar de folato pelos pais sobre o risco para LLA pediátrica.....	35
Tabela 4. Efeito de polimorfismos no gene <i>MTRR</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	49
Tabela 5. Efeito de polimorfismos no gene <i>SLC19A1</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	53
Tabela 6. Efeito de polimorfismos no gene <i>TYMS</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	58
Tabela 7. Efeito de polimorfismos no gene <i>SHMT1</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	61
Tabela 8. Efeito de polimorfismos no gene <i>MTR</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	64
Tabela 9. Efeito de polimorfismos no gene <i>MTHFD1</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	67
Tabela 10. Efeito de polimorfismos no gene <i>DHFR</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	70
Tabela 11. Efeito de polimorfismos no gene <i>NNMT</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	70
Tabela 12. Efeito de polimorfismos no gene <i>FPGS</i> sobre o risco para LLA pediátrica.....	71
Tabela 13. Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para LLA pediátrica em meninos e meninas.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

10-formil-THF	10-formil-tetrahidrofolato
5,10-metenil-THF	5,10-metenil-tetrahidrofilato
5,10-metileno-THF	5,10-metileno-tetrahidrofolato
95%IC	Intervalo de Confiança de 95%
DHF	Dihidrofolato
DHFR	Dihidrofolato Redutase
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
FPGS	Folipoliglutamato Sintase
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
MLL	Mixed Lineage Leukemia ou Myeloid-Lymphoid Leukemia
MTHFD1	Metilenotetrahidrofolato Desidrogenase 1
MTHFR	Metilinetetrahidrofolato Redutase
MTR	Metionina Sintase
MTRR	Metionina Sintase Redutase
NNMT	Nicotinamida N-metiltransferase
SAMe	S-adenosil-metionina
SHMT1	Serina Hidroxi-metiltransferase 1
SLC19A1	Carreador de Solutos Família 19 Número 1
THF	Tetrahidrofolato
TS	Timidilato Sintase

RESUMO

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a neoplasia hematológica mais comum na faixa etária pediátrica, correspondendo a cerca de 75% dos diagnósticos de leucemias. Sua etiologia multifatorial envolve, entre outros fatores, alterações no metabolismo dos folatos. Ingestão de folato via alimentos ou suplementos, bem como a presença de polimorfismos em genes implicados em seu metabolismo vêm sendo estudados como possíveis fatores associados ao risco para a ocorrência de LLA pediátrica. Como o papel destes fatores na etiologia da LLA não está completamente elucidado, este estudo objetivou reunir evidências científicas a respeito da implicação de alterações no metabolismo dos folatos no risco para LLA pediátrica. Foi realizada uma revisão sistemática de estudos observacionais tipo caso-controle, com busca nas bases de dados Medline, Lilacs, Scopus e Web of Science. Foram incluídos na revisão 49 estudos, dos quais, 9 investigaram a relação entre a ingestão de ácido fólico e o risco para LLA pediátrica, e 40 estudaram a suscetibilidade genética à LLA relacionada à presença de polimorfismos nas vias dos folatos. Os resultados demonstram que há evidências limitadas de que a suplementação materna peri-gestacional com ácido fólico possa conferir proteção para a ocorrência de LLA pediátrica. Não há consenso quanto ao papel do polimorfismo *MTHFR* C677T na modulação do risco para LLA pediátrica, embora mais estudos tenham demonstrado proteção do que aumento do risco para a doença. Os estudos relacionados às variantes *MTHFR* A1298C, *SLC19A1* G80A, *TYMS* 1494del6 e *TYMS* 28pb2R/3R apresentam resultados controversos, sugerindo que o efeito destas sobre o risco para LLA pode ser modificado por etnia, gênero, ingestão de folato, e presença de outras variantes genéticas. Não há evidências de que os polimorfismos *MTRR* A66G, *SHMT* C1420T, *MTR* A2756G e *MTHFD1* G1958A influenciem isoladamente o risco para LLA pediátrica. Os polimorfismos *MTRR* C524T, *MRR* A1049G, *MTRR* C1783T, *MTHFD1* G401A, *DHFR* A317G, além de variantes em *NNMT* e *FPGS* foram pouco estudados quanto ao papel na etiologia da LLA, impossibilitando uma conclusão a respeito deste. A realização de novos estudos é necessária para maior compreensão da interação entre alterações no metabolismo dos folatos e outros fatores genéticos ou ambientais na modulação do risco para LLA pediátrica.

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common hematologic malignancy in the pediatric age group, accounting for about 75% of leukemia diagnoses. Its multifactorial etiology involves, among other factors, alterations in the folate metabolism. Folic acid intake by food or supplements as well as polymorphisms in folate related genes have been studied as possible factors associated with the risk for pediatric ALL occurrence. The role of these factors in the etiology of ALL is not fully elucidated, and so, this study aimed to gather scientific evidence about the implications of folate metabolism alterations on the risk to pediatric ALL. A systematic review of observational case-control studies was conducted throughout Medline, Lilacs, Scopus and Web of Science databases. Forty-nine studies were included in this review, of which 9 investigated the relationship between folic acid intake and the risk to pediatric ALL, and 40 studied genetic susceptibility to ALL related to the presence of polymorphisms in the folate pathway. The results demonstrated that there is limited evidence that maternal folic acid supplementation before or during pregnancy may provide protection for the occurrence of pediatric ALL. There is no consensus about the role of *MTHFR* C677T polymorphism in modulating the risk for pediatric ALL, although more studies have shown protection than increased risk for the disease. The results of studies related to *MTHFR* A1298C, *SLC19A1* G80A, *TYMS* 1494del6 and *TYMS* 28pb2R / 3R are controversial, suggesting that the effect of those on the risk for ALL can be modified by ethnicity, gender, folate intake, and presence of other genetic variants. There is no evidence that genetic polymorphisms *MTRR* A66G, *SHMT* C1420T, *MTR* A2756G and *MTHFD1* G1958A modify the risk to pediatric ALL, although they may be involved in gene-gene and gene-environment interactions. Gene polymorphisms *MTRR* C524T, *MTRR* A1049G, *MTRR* C1783T, *MTHFD1* G401A, *DHFR* A317G, as well as variants in *NNMT* and *FPGS* genes have been poorly investigated on the role of ALL etiology, making it impossible for us to come to conclusions about them. New studies are needed to better understand the interaction between folate pathway alterations and other genetic or environmental factors in modulating the risk for pediatric ALL.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. Epidemiologia e classificação da leucemia linfoblástica aguda pediátrica	11
1.2. Etiologia da LLA pediátrica	13
1.3. Mutações e polimorfismos genéticos	15
1.4. O metabolismo dos folatos	17
1.5. O metabolismo dos folatos e a patogênese da LLA	19
2. OBJETIVOS	22
2.1. Objetivo Geral	22
2.2. Objetivos Específicos	22
3. PROCEDIMENTO METODOLÓGICO	23
3.1. Protocolo e registro	23
3.2. Critérios de elegibilidade	23
3.3. Fontes de informação	23
3.4. Estratégias de busca	24
3.4.1. <u>Estratégias de busca para estudos relacionados à suscetibilidade</u>	24
3.4.2. <u>Estratégias de busca para estudos relacionados à ingestão de folato</u>	24
3.5. Seleção dos estudos	24
3.6. Extração e interpretação dos dados	25

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1. Ingestão ou suplementação de folato.....	26
4.1.1. <u>Suplementação materna peri-gestacional com ácido fólico</u>	28
4.1.2. <u>Suplementação de crianças com ácido fólico</u>	33
4.1.3. <u>Ingestão alimentar de folato</u>	33
4.2. Suscetibilidade genética conferida por polimorfismos em genes do ciclo dos folatos	36
4.2.1. <u>Polimorfismos no gene <i>MTHFR</i></u>	38
4.2.2. <u>Polimorfismos no gene <i>MTRR</i></u>	46
4.2.3. <u>Polimorfismos no gene <i>SLC19A1</i></u>	51
4.2.4. <u>Polimorfismos no gene <i>TYMS</i></u>	54
4.2.5. <u>Polimorfismos no gene <i>SHMT1</i></u>	60
4.2.6. <u>Polimorfismos no gene <i>MTR</i></u>	62
4.2.7. <u>Polimorfismos no gene <i>MTHFD1</i></u>	65
4.2.8. <u>Polimorfismos em outros genes</u>	68
4.2.9. <u>Efeito gênero-dependentes de polimorfismos em genes relacionados ao folato sobre o risco para LLA</u>	73
5. CONCLUSÃO.....	78
6. REFERÊNCIAS.....	80
7. APÊNDICES.....	92

1. INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia e classificação da leucemia linfoblástica aguda pediátrica.

Leucemias pediátricas são um grupo de desordens oncológicas que acometem o sistema hematopoiético de crianças e adolescentes de idade entre 0 e 19 anos. Caracterizam-se por proliferação desregulada de células das linhagens linfóide ou mieloide (SMITH *et al.*, 1999). As leucemias são as neoplasias pediátricas mais frequentes, correspondendo a 25–35% dos diagnósticos de cânceres nesta faixa etária, na maior parte das populações já estudadas no mundo (INCA, 2008).

As leucemias pediátricas são um grupo heterogêneo de doenças que diferem quanto ao prognóstico, tratamento, características epidemiológicas e biologia das células leucêmicas. Na infância, apresentam maior incidência as leucemias agudas, que acometem células imaturas e apresentam rápida progressão clínica. Estas são classificadas de acordo com a linhagem celular afetada, mieloide ou linfóide, em Leucemia Mieloide Aguda (LMA) e Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), respectivamente (GREAVES, 2002).

Entre as leucemias pediátricas, a LLA é a mais incidente e corresponde a cerca de 75% dos casos, enquanto que a LMA é responsável por 15 – 17%. Leucemias crônicas são raras nesta faixa etária e representam $\leq 4\%$ do total (BELSON *et al.*, 2007; LIGHTFOOT & ROMAN, 2004).

As LLAs podem ser classificadas em 3 subtipos principais de acordo com a origem das células acometidas: células B progenitoras (LLA pró-B), células B precursoras (LLA pré-B) ou células T precursoras (LLA-T). A LLA pró-B, causada pela multiplicação desordenada de células precursoras imaturas de linfócitos B, é mais comum em crianças com idade ≤ 1 ano e representa cerca de 5% das LLAs. A LLA pré-B acomete células precursoras intermediárias dos linfócitos B. Aproximadamente 75% dos diagnósticos de LLA correspondem a este subtipo, cujo pico de incidência ocorre entre 2 – 5 anos de idade. A LLA-T, causada por desordem replicativa de células precursoras de linfócitos T, acomete principalmente

adolescentes e representa entre 15 – 20% dos casos de LLA (GREAVES & WIEMELS, 2003; SMITH et al, 2005).

A maior parte das células leucêmicas apresenta anormalidades cromossômicas, incluindo translocações, rearranjos, inversões, deleções e alterações numéricas. As principais alterações relacionadas à LLA pré-B são os genes de fusão *ETV6/RUNX1* (*TEL/AML1*), *TCF3/PBX1* (*E2A/PBX1*) e *BCR/ABL*, além da hiperdiploidia. A translocação cromossômica t(12;21)(p13;q22), que produz o gene de fusão *ETV6/RUNX1* está presente em 22 a 25% dos casos de LLA pediátrica, e está associada a bom prognóstico, pois aumenta a sensibilidade à quimioterapia. O gene de fusão *TCF3/PBX1*, resultante da translocação t(1;19)(q23;p13) está presente em cerca de 5% dos casos e relaciona-se a pior prognóstico. A translocação t(9;22)(q34;q11) produz o cromossomo *Philadelphia*, que resulta no gene de fusão *BCR/ABL*. Esta alteração, pouco comum em LLA pediátrica, afeta menos de 5% dos casos da doença e é mais frequente em crianças maiores de 10 anos. A hiperdiploidia, observada em cerca de 35% dos casos de LLA pediátrica, confere maior sensibilidade ao tratamento com metotrexato, melhorando o prognóstico. Cerca de 85% dos casos de LLA em lactentes (≤ 1 ano) apresentam rearranjo do gene *MLL* (*mixed lineage leukemia*). Esta alteração, presente em apenas 5% do total dos casos de LLA pediátrica, relaciona-se com a LLA do subtipo pró-B, e confere prognóstico bastante desfavorável. A alteração cromossômica mais frequente na LLA-T é a translocação t(1;14)(p32~34;q11), pela qual a célula passa a superexpressar o gene *TAL1* (GREAVES, 2003; HARRISON, 2000; WOJTUSZKIEWICZ *et al.* 2015).

Estudos epidemiológicos demonstraram que a suscetibilidade à LLA está associada a idade, gênero e etnia. O pico de incidência ocorre em crianças entre 2 – 5 anos de idade. Meninos são mais suscetíveis à doença, exceto no grupo de lactentes, no qual meninas são mais acometidas. Com relação à etnia, populações caucasianas apresentam incidência mais elevada que crianças afro-descendentes (BELSON *et al.*, 2007; SMITH, 1999; LI *et al.*, 2007).

Nas últimas décadas, o avanço da ciência no tratamento da LLA tem implicado em progresso quanto à sobrevivência de crianças acometidas pela doença. A sobrevivência em 5 anos aproxima-se de 80% em países desenvolvidos (TASIAN *et al.*, 2015). No Brasil, Pedrosa & Lins (2002) descreveram taxa de 75% no estado de

Pernambuco. Para determinados subgrupos de LLA pré-B, a taxa de remissão total e sobrevida em cinco anos atingiu o patamar de 92%. Embora tenham havido avanços, leucemias agudas ainda representam a principal causa de morte por câncer na faixa etária pediátrica no mundo (TASIAN *et al.*, 2015).

1.2. Etiologia da LLA pediátrica

A LLA é uma doença de etiologia complexa e multifatorial, que envolve fatores genéticos e ambientais. É provável que as alterações somáticas no DNA relacionadas à ocorrência da LLA tenham origem na vida intrauterina. As evidências que sustentam esta hipótese são baseadas na ocorrência de clones com genes de fusão resultantes de translocações cromossômicas associadas ao fenótipo leucêmico em neonatos que desenvolveram leucemias (MAIA *et al.* 2004). Este fato justifica a associação entre exposição a fatores de risco durante a gestação com a doença. Subsequentes alterações genéticas, normalmente pós-natais são necessárias para que a LLA se manifeste clinicamente. Estas alterações podem estar relacionadas à exposição da criança a substâncias tóxicas, infecções ou radiação ionizante (GREAVES *et al.* 2005).

Outro fator associado às leucemias é a presença de síndromes genéticas como síndrome de Down, neurofibromatose, anemia de Fanconi e síndrome de Bloom. Portadores destas doenças apresentam riscos mais elevados para ocorrência de leucemias quando comparados à população saudável (ZIEGELBERGER *et al.*, 2011; WIEMELS, 2012). Entre estes casos, a relação mais comum é com a síndrome de Down, doença que eleva em cerca de 20 vezes o risco para LLA. Estima-se que entre 1 – 3% dos casos de LLA pediátrica estejam relacionados a esta desordem (SEEWALD *et al.* 2012).

Fatores ambientais relacionados à exposição da criança ou dos pais, como tabaco, álcool, medicamentos, infecções, radiação ionizante, aleitamento materno e suplementação contendo ácido fólico, já foram documentados como possíveis fatores associados ao risco para LLA (LIGHTFOOT & ROMAN, 2004).

A relação entre o tabagismo dos pais e a incidência de LLA foi estudada por Milne e cols. (2012) em amostra de 388 crianças australianas com LLA e 868 controles. O tabagismo materno antes ou durante a gestação foi incapaz de alterar o

risco para a doença, porém, o uso paterno de número igual ou superior a 15 cigarros ao dia foi associado com a LLA pediátrica, com *odds ratio* (OR) = 1,46, e intervalo de confiança de 95% entre 1,05 – 2,01. Os mesmos autores realizaram metanálise de 10 estudos que investigaram o efeito do tabagismo paterno sobre o risco para LLA, também encontrando relação estatisticamente significativa (OR = 1,15 e 95%IC = 1,06 – 1,24). Estudos realizados por Chang e cols. (2006) e Orsi e cols. (2015) também apontaram associação nula entre o tabagismo em mães e o risco para LLA.

O alcoolismo materno foi associado ao risco para LLA em um estudo multicêntrico realizado por Menegaux e cols. (2005) na França com 280 casos de LLA e 288 controles hospitalizados. O uso de álcool durante a gestação aumentou o risco para a doença (OR = 2,0 e 95%IC = 1,4 – 3,0). Este resultado, porém, não foi reproduzido por estudos realizados por Ferreira e cols. (2015) e Orsi e cols. (2015).

A patogênese da leucemia pode estar relacionada à ocorrência de doenças infecciosas nas mães. Pneumonia, herpes zoster, infecções genitais, doenças sexualmente transmissíveis, vírus Epstein-Barr, e *Helicobacter pylori* já foram descritos como possíveis fatores de risco para LLA pediátrica (MAIA & WÜNSCH FILHO, 2013).

A exposição à radiação ionizante é um conhecido fator de risco para LLA. É possível que mesmo baixas doses, como as utilizadas em exames de imagem, possam aumentar o risco para a doença. A relação entre a exposição intrauterina à radiação e o risco para LLA foi descrita pela primeira vez em 1956, e reproduzida posteriormente em diversos estudos tipo caso-controle (SHU *et al.*, 1994; MCKINNEY *et al.*, 1999). Já a exposição pós natal de crianças a raios X foi pouco pesquisada e os estudos apresentaram resultados conflitantes (WAKEFORD, 2008). Segundo Shu e cols. (1994), a exposição paterna à radiação em períodos próximos à concepção também é capaz de elevar o risco para a doença.

O aleitamento materno tem sido descrito como potencial fator de prevenção para LLA pediátrica. Uma metanálise de 17 estudos realizada por Amitay e cols. (2015) identificou que duração igual ou superior a 6 meses de amamentação foi capaz de reduzir o risco para leucemias infantis em 20% (OR = 0,80 e 95%IC = 0,72 – 0,90). Este efeito, segundo os autores, pode estar relacionado à presença, no leite materno, de substâncias estimuladoras do sistema imunológico e moduladoras da

microbiota intestinal. Esta característica protege contra infecções capazes de elevar o risco para a doença.

Entre fatores genéticos, polimorfismos em genes relacionados à biotransformação de xenobióticos, reparo do DNA, controle do ciclo celular, função do sistema imunológico e metabolismo dos folatos já foram relacionados com o risco para a doença (BRISSON, ALVES & POMBO-DE-OLIVEIRA, 2015; EDEN, 2010).

Polimorfismos em genes relacionados ao transporte e metabolização de xenobióticos, como *ABCB1*, *CYP2C8*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, *GSTM1*, *GSTP1* e *GSTT1* já foram descritos como fatores de risco para LLA. Estes genes codificam enzimas responsáveis pela eliminação ou biotransformação de carcinógenos como inseticidas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (MOULIC *et al.* 2014; CHOKKALINGAM *et al.* 2012)

Alterações em genes implicados no reparo de DNA como *XRCC1* e *XPB* também foram associados ao risco para LLA (BATAR *et al.*, 2009). Genes relacionados à regulação do ciclo celular também já foram associados ao risco para a doença. Segundo Lautner-Csorba e cols. (2012), polimorfismos em *ARID5B* e *IKZF1* podem elevar o risco para LLA-B, enquanto polimorfismos de *STAT3* estão associados à ocorrência de LLA com hiperdiploidia. Estudo realizado por Emerenciano e cols. (2014) identificou que a variante rs10821936 no gene *ARID5B* está relacionada com aumento do risco para leucemias com rearranjo do gene *MLL* (*MLL-MLLT3*).

1.3. Mutações e polimorfismos genéticos

Mutações genéticas são definidas como mudanças na sequência de nucleotídeos ou no arranjo do DNA. Podem ser classificadas em três categorias: genômicas, em que há alteração no número de cromossomos; cromossômicas, caracterizadas por alteração da estrutura dos cromossomos; ou gênicas, nas quais os genes são individualmente afetados (HOFF *et al.*, 2013).

As mutações pontuais consistem em substituições de um único nucleotídeo, que podem ser silenciosas quando não alteram a transcrição gênica; de sentido alterado (*missense*) quando forma-se um códon capaz de codificar um aminoácido

diferente do original; ou sem sentido (*nonsense*) quando forma-se um códon de parada e a transcrição é interrompida (NUSSBAUM et al., 2008).

Outra forma de mutação são as deleções e inserções de um pequeno segmento de DNA. Quando a mutação ocorre em uma sequência de codificação e o segmento em questão apresenta número de nucleotídeos múltiplo de três, são acrescentados ou retirados aminoácidos da proteína codificada, mas não há alteração da codificação após a inserção ou deleção. Já quando a alteração envolve um número de nucleotídeos não múltiplo de três, toda a transcrição a partir daquele ponto será alterada. Podem haver também grandes deleções, envolvendo segmentos substanciais de um gene ou genes inteiros, enquanto que inserções de grande porte são mais raras. Sequências extensas de pares de bases podem ser multiplicadas, processo denominado amplificação. A troca de material genético entre cromossomos não homólogos denomina-se translocação e pode dar origem a genes de fusão (NUSSBAUM et al., 2008).

Estas alterações podem ocorrer em qualquer tipo celular, sendo que mutações em células da linhagem germinativa podem ser transferidas para gerações futuras. Mutações somáticas, por outro lado, ocorrem em um subgrupo de células de determinado tecido (REGATEIRO, 2007).

Há variantes genéticas comuns, presentes em mais que 1% da população, denominadas polimorfismos. Os mais simples e frequentes polimorfismos são os de nucleotídeos individuais, que consiste em alteração de apenas um nucleotídeo e geralmente possuem apenas dois alelos, correspondendo às duas bases possíveis em uma certa localização no genoma. Há também polimorfismos por deleções ou inserções, que podem apresentar apenas dois alelos (ausência ou presença de um determinado segmento) ou ser polialélicos quando há repetição em *tandem* de um determinado número de pares de bases (NUSSBAUM et al., 2008; REGATEIRO, 2007).

Polimorfismos podem alterar ou não a chance de um indivíduo desenvolver uma doença, sendo esta alteração denominada suscetibilidade genética. Geralmente polimorfismos não estão associados a grandes elevações no risco para doenças, mas contribuem sutilmente na determinação da suscetibilidade (ROCHA et al., 2007).

1.4. O metabolismo dos folatos

O folato é uma vitamina hidrossolúvel essencial a diversas reações do metabolismo humano. Ocorre naturalmente em alimentos, mas devido ao grande impacto à saúde causado por sua deficiência, é comum que países adotem programas de fortificação, tornando obrigatória a adição deste nutriente a alimentos comuns à cultura local. A suplementação de sua forma sintética, ácido fólico, tem sido recomendada antes e durante a gestação para prevenção de malformações fetais (SANTOS *et al.*, 2016).

Os folatos encontram-se nos alimentos naturais predominantemente na forma de poliglutamatos, que apresentam em sua estrutura molecular até sete resíduos de glutamato. Para serem absorvidos, necessitam ser hidrolisados pela enzima pteroilpoliglutamil hidrolase. Estas formas são pouco biodisponíveis quando comparadas ao ácido fólico, substância sintética que contém apenas um resíduo de glutamato. A baixa biodisponibilidade deste nutriente e a reduzida ingestão de alimentos fonte, como folhosos verdes escuros na dieta ocidental moderna, torna comum a insuficiência orgânica deste nutriente (MOMB & APPLING, 2014).

A absorção de folato é realizada predominantemente no duodeno, na forma de monoglutamato, através da proteína de membrana pteroil-gama-glutamil-carboxipeptidase. Após absorvido, é convertido em diidrofolato (DHF), e posteriormente, em tetraidrofolato (THF), reações catalisadas pela enzima Diidrofolato Redutase (DHFR) (COZZOLINO *et al.* 2009; ASKARI *et al.*, 2010).

O THF é substrato para a enzima Metilenotetraidrofolato Desidrogenase (MTHFD1), que catalisa três reações consecutivas: conversão do THF para 10-formil-tetraidrofolato (10-formil-THF), deste para 5,10-metenil-tetraifrofolato (5,10-metenil-THF), e deste para 5,10-metileno-tetraifrofolato (5,10-metileno-THF). A forma 10-formil-THF é coenzima para a síntese de purinas (GIUSTI, 2012).

A enzima Metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR) converte o 5,10-metileno-THF a 5-metil-tetraidrofolato (5-metil-THF). A maior parte do folato dietético é convertido a 5-metil-THF nos enterócitos, que entra na circulação sanguínea ligado à albumina ou na forma livre. O 5-metil-THF é captado por células periféricas através da proteína transportadora de folato (SLC19A1 ou RFC1). No meio intracelular, 5-metil-THF atua como doador de metil na reação catalisada pela

Metionina Sintase Redutase (MTRR). A MTRR converte 5-metil-THF em THF e cobalamina a metilcobalamina, que por sua vez, é doadora de metil na reação catalisada pela Metionina Sintase (MTR), que converte homocisteína em metionina. Este aminoácido origina a S-adenosil-metionina (SAME), doadora universal de grupamentos metil (CRIDER *et al.*, 2012). O THF pode ser armazenado nas células na forma de poliglutamato através de reação catalisada pela Folipoliglutamato Sintase (FPGS). (COZZOLINO *et al.* 2009).

A transferência de um carbono da SAME para diversas substâncias, a exemplo de DNA, histonas e xenobióticos, é catalisada pela enzima Tiopurina-S-metiltransferase (TPMT). Após esta reação, SAME torna-se S-adenosil-homocisteína, que será convertida a homocisteína, reiniciando o ciclo de metilação (CRIDER *et al.*, 2012).

Na síntese de purinas, o folato atua na forma de 10-formil-THF, na transferência de grupamentos “formil” para 5'-fosforribosil-glicinamida e 5'-fosforribosil-5-aminoimidazol-4-carboxamida. Já a biossíntese da base timina requer reação catalisada pela enzima Timidilato Sintase (TS), dependente de 5,10-metileno-THF. Na deficiência de folato, a síntese de DNA é prejudicada, e a base uracila tende a substituir a timina (BAGGOTT & TAMURA, 2015; FENECH, 2012). Esta descrição nas etapas do ciclo do metabolismo dos folatos está ilustrada na Figura 1.

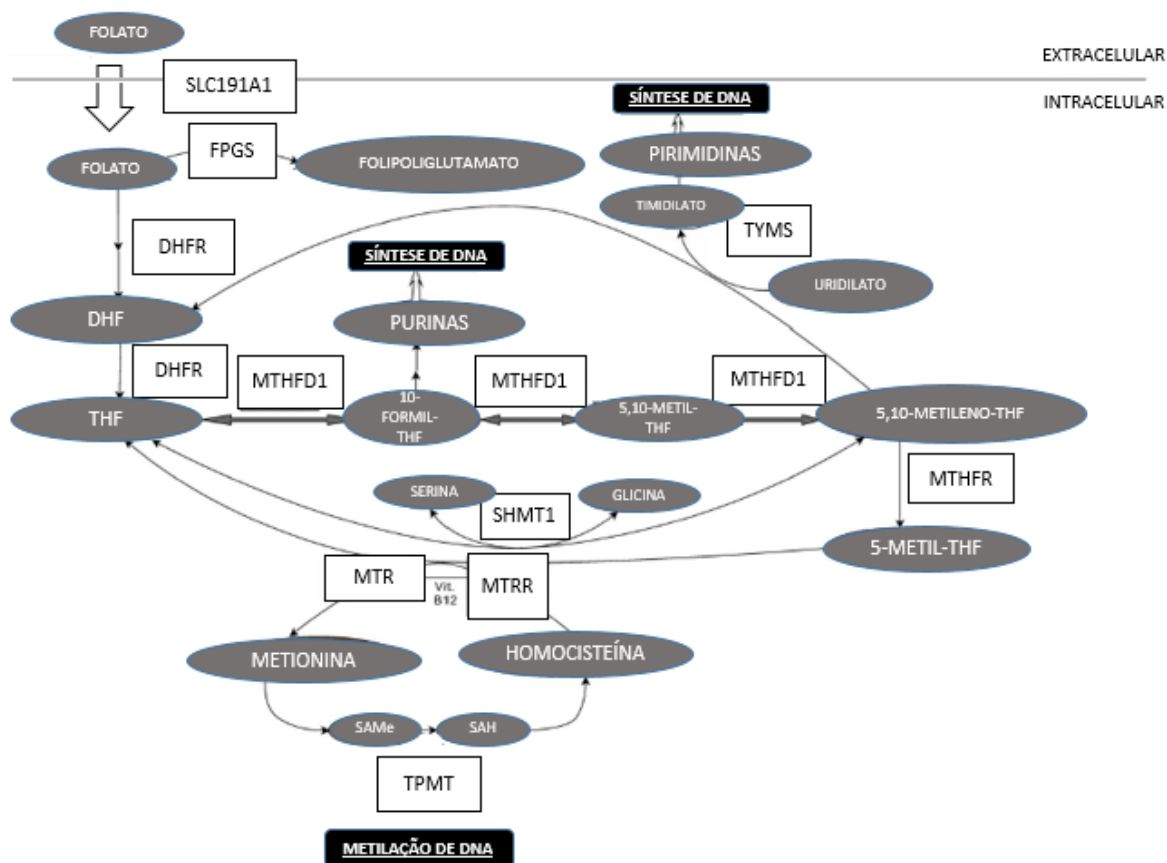


Figura 1: Metabolismo dos folatos. DHF: dihidrofolato; THF: tetrahydrofolato; SAMe: S-adenosil-metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; SLC19A1: transportador de folato; FPGS: folipoliglutamato sintase; DHFR: dihidrofolato redutase; MTHFD1: metil-tetrahydrofolato desidrogenase; TYMS: timidilato sintase; MTHFR: metileno-tetrahydrofolato redutase; TPMT: tiopurina metil-transferase; vit. B12: vitamina B12. (Modificado de LAUTNER-CSORBA, 2013).

1.5. O metabolismo dos folatos e a patogênese da LLA

Há evidências de que alterações no metabolismo dos folatos estejam envolvidas na leucemogênese, e de que a ocorrência de alterações genômicas somáticas e translocações cromossômicas associadas ao fenótipo leucêmico tenha frequência maior na insuficiência de folato, seja por baixa ingestão do nutriente ou por alterações em genes implicados em suas vias metabólicas (GREAVES, 2005).

A hipótese de que a ingestão materna de folato pode influenciar o risco para LLA pediátrica justifica-se no fato de que as alterações associadas ao fenótipo leucêmico podem ser geradas na vida intra-uterina (MAIA et al. 2004). Sendo o folato nutriente essencial à síntese de DNA, estabilidade genômica e regulação da

expressão gênica, sua biodisponibilidade poderia estar relacionada à formação de alterações genéticas associadas à LLA (COZZOLINO, 2009). A biodisponibilidade de folatos, em suas diversas formas, para atender à demanda pelas reações em que é necessário como cofator, está associada também à presença de variantes em genes que codificam enzimas relacionadas a seu metabolismo, o que justifica a hipótese de que esses polimorfismos possam estar associados ao risco para LLA (DE JONGE *et al.* 2009).

Um dos possíveis mecanismos capazes de explicar a relação entre o metabolismo de folato e a LLA é a redução na taxa de conversão da homocisteína em metionina, que ocorre na redução da biodisponibilidade deste nutriente. Neste caso, ocorre deficiência na transferência de grupamentos metil da SAMe para o DNA, causando hipometilação em genes de vias de sinalização celular importantes nos mecanismos da leucemogênese (DE JONGE *et al.* 2009).

Outra via pela qual alterações do metabolismo dos folatos podem gerar alterações relacionadas à LLA é a redução da formação de timidilato pela enzima TS, que utiliza 5,10-metileno-THF como precursor. Com reduzida síntese de timina, a base uracila é incorporada ao DNA podendo gerar quebra da dupla-fita. Este mecanismo parece ser particularmente importante na leucemogênese (AKHAVAN-NIAKI & SAMADANI, 2013).

Menos mencionada nos estudos é a possibilidade de que polimorfismos relacionados a aumento da taxa de metilação causem hipermetilação do DNA e inibam a expressão de genes supressores de tumor (LIGHTFOOT *et al.* 2010).

A motivação para elaboração deste trabalho é o fato de que o metabolismo de folatos tem grande importância na leucemogênese, e sua compreensão pode ser útil à adoção de estratégias de prevenção a uma doença de grande impacto à saúde humana. Várias pesquisas foram elaboradas para desvendar a suscetibilidade genética conferida pelos polimorfismos em genes do ciclo dos folatos à LLA. Variantes nos genes *MTHFR*, *MTRR*, *SLC19A1*, *TYMS*, *MTR*, *NNMT* e *FPGS* já foram descritas como fatores associados ao risco para LLA (DE JONGE *et al.* 2009; PIWKHAM *et al.* 2015; LIGHTFOOT *et al.* 2010; GAST *et al.* 2007). Questões relacionadas à ingestão de folatos via suplementos e alimentos também vêm sendo pesquisadas quanto à relação com a etiologia da LLA. Estudos epidemiológicos têm descrito a suplementação materna peri-gestacional como fator de proteção para a

doença (METAYER *et al.* 2014; AMIGOU *et al.*, 2012; THOMPSON *et al.* 2001). O papel das alterações no metabolismo dos folatos na etiologia da LLA pediátrica não está completamente elucidado, o que nos desafia para a realização de uma revisão das evidências a respeito do tema e agregar resultados à formação de conhecimento.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Reunir as evidências científicas disponíveis na literatura a respeito das alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica aguda infantil, através de uma revisão sistemática.

2.2. Objetivos específicos

- Reunir evidências científicas sobre a suscetibilidade genética à LLA relacionada à presença de polimorfismos em genes implicados no metabolismo dos folatos.
- Verificar na literatura as evidências a respeito da influência da ingestão ou suplementação de folato sobre o risco para leucemia linfoblástica aguda infantil.

3. PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

3.1. Protocolo e registro

O protocolo do presente estudo encontra-se no apêndice A.

3.2. Critérios de elegibilidade

Foram critérios para inclusão nesta revisão: (1) estudo observacional, do tipo caso-controle; (2) estudo que relacione presença de polimorfismos em genes associados ao metabolismo dos folatos, ou ingestão de folatos via suplementos ou alimentos, com o risco para LLA pediátrica.

Foram considerados critérios de exclusão: (1) não apresentar grupo controle; (2) incluir na coorte de casos, indivíduos com idade igual ou superior a 20 anos; (3) estar escrito em idioma diferente do português, inglês ou espanhol; (4) cartas ao editor; (5) estudos que relacionem a presença de alelos, mas não de genótipos sobre risco para LLA pediátrica; (6) estudos que incluam entre os casos crianças com tipos de leucemia diferentes de LLA.

3.3. Fontes de informação

Estudos foram identificados através de busca bibliográfica realizada nas bases de dados Medline (1966 – presente), Lilacs (1982 – presente), Scopus (1995 – presente) e Web of Science (1900 – presente). Estudos de revisão encontrados através da estratégia de busca tiveram as listas de referências inspecionadas. O último acesso às bases foi realizado em Janeiro de 2016.

3.4. Estratégias de busca

As estratégias de busca foram confeccionadas utilizando-se palavras relacionadas à população estudada, exposição, controle e desfecho. Foram elaboradas duas estratégias de busca distintas para localização de estudos relacionados a: (1) Suscetibilidade genética relacionada à presença de polimorfismos em genes do metabolismo dos folatos; e (2) ingestão de folato através de suplementos nutricionais ou alimentos e o risco para LLA.

A presente revisão contou com a colaboração de profissionais da Biblioteca do Hospital do Câncer I para a elaboração de estratégias de busca.

3.4.1. Estratégias de busca para estudos relacionados à suscetibilidade genética

Foram utilizados os seguintes termos para a localização dos estudos: “leucemia”, “infância”, “gestação”, “folato”, “*MTHFR*”, “*TYMS*”, “*MTR*”, “*MTRR*”, “*DHFR*”, “*MTHFD*”, “*SHMT*” e “polimorfismo”, em idiomas inglês, português e espanhol. Sinônimos e descritores equivalentes também foram utilizados. As estratégias completas para as diferentes bases de dados estão disponíveis no apêndice B.

3.4.2. Estratégias de busca para estudos relacionados à ingestão de folato

Foram utilizados os seguintes termos para a localização dos estudos: “leucemia”, “infância”, “gestação”, “folato”, “ingestão”, e “suplementação” em idiomas inglês, português e/ou espanhol. Sinônimos e descritores equivalentes também foram utilizados. As estratégias completas para as diferentes bases de dados estão disponíveis no apêndice B.

3.5. Seleção dos estudos

Os estudos foram pré-selecionados através da leitura dos títulos e resumos realizada por dois revisores (AACF e GDB), independentemente. As discordâncias

foram resolvidas através de consenso. Estudos pré-selecionados foram lidos na íntegra por ambos os avaliadores, e incluídos ou não, conforme os critérios de inclusão e exclusão.

3.6. Extração e interpretação dos dados

A extração de dados foi realizada através de preenchimento de um formulário, que incluiu: (1) local de realização do estudo; (2) ano de publicação; (3) número de casos; (4) número de controles; (5) idade dos casos; (6) critérios para pareamento dos controles; (7) fatores de confusão avaliados; (8) resultados encontrados, incluindo OR, 95%IC e P-valor. Discordâncias entre os revisores foram resolvidas através de consenso entre ambos.

Resultados foram considerados estatisticamente significativos quando P-valor $\leq 0,05$ ou 95%IC não incluiu o valor 1. Para os estudos de suscetibilidade genética, considerou-se que o polimorfismo altera o risco para LLA quando a presença de uma ou mais cópias do alelo variante foi capaz de aumentar ou reduzir significativamente a OR.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ingestão ou suplementação de folato

O fluxograma de busca e seleção dos artigos incluídos está sumarizado na Figura 2. Foram identificados ao todo, 186 estudos, provenientes das seguintes bases de dados: Medline (n = 30); Web of Science (n = 70); Lilacs (n = 10); e Scopus (n = 76). Um estudo foi resgatado das listas de referências dos artigos lidos. Após exclusão das duplicatas, 126 estudos tiveram seus títulos e resumos lidos, sendo que 117 foram excluídos por não se enquadrarem nos critérios de inclusão. Nove estudos foram lidos na íntegra, etapa em que não houveram exclusões. Os dados foram extraídos e organizados em três tabelas: “efeito da suplementação materna peri-gestacional com ácido fólico sobre o risco para LLA pediátrica” (oito estudos), Tabela 1; “efeito da suplementação de crianças com ácido fólico sobre o risco para LLA pediátrica” (um estudo), Tabela 2; “efeito da ingestão alimentar de folato pelos pais sobre o risco para LLA pediátrica” (dois estudos), Tabela 3.

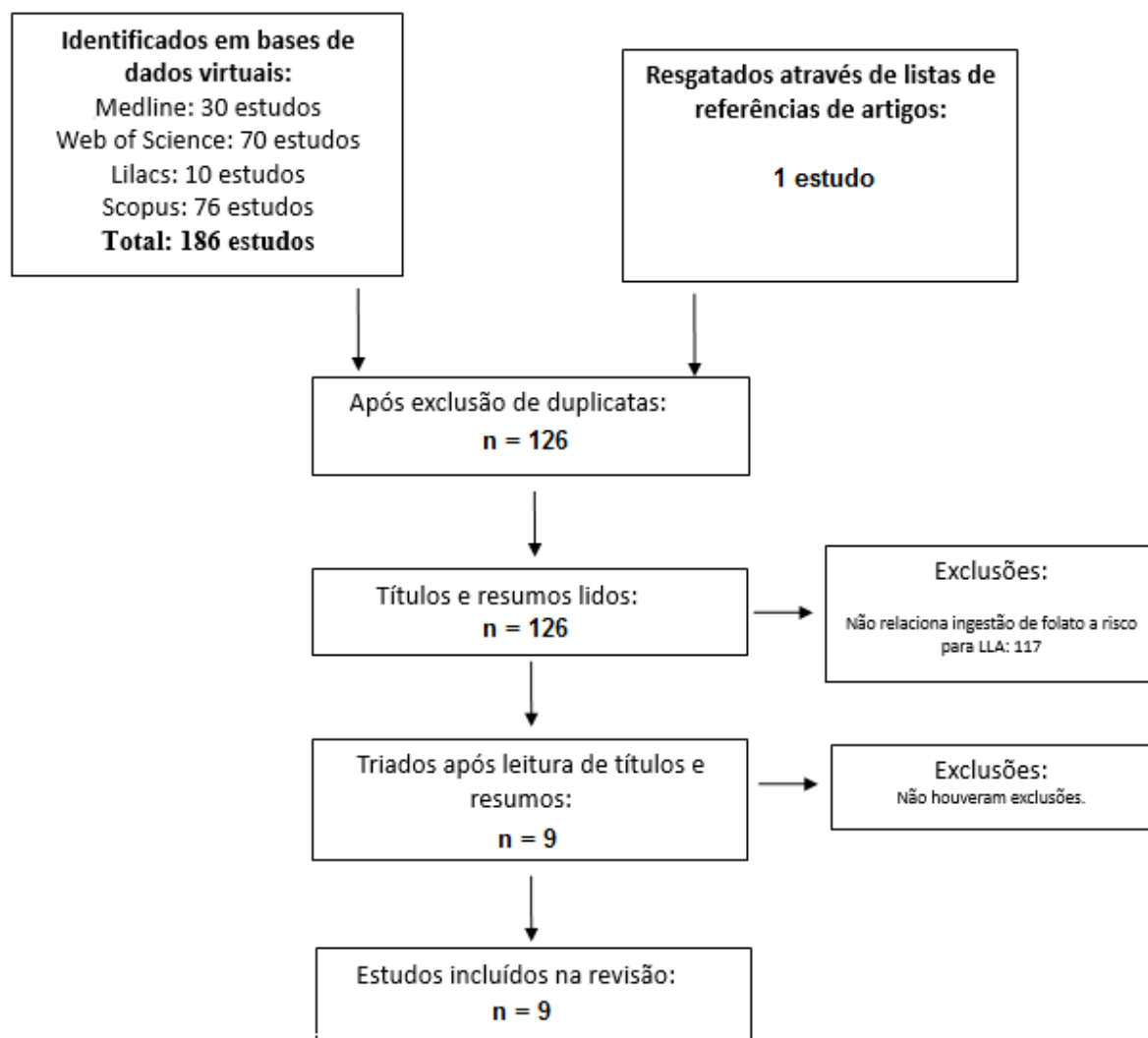


Figura 2: Diagrama de fluxo da busca e seleção dos estudos para ingestão ou suplementação de folato e risco para LLA.

4.1.1. Suplementação materna peri-gestacional com ácido fólico

Foram incluídos oito estudos que investigaram o efeito da suplementação materna perigestacional, isto é, antes ou durante a gestação, sobre o risco para LLA pediátrica. Os dados extraídos destes estudos encontram-se descritos na Tabela 1. Destes, quatro foram realizados na Oceania, dois na Europa, um na América do Norte e um em consórcio entre países de todos os continentes, exceto a Ásia.

Oito estudos analisaram o efeito da suplementação durante a gestação sobre o risco para LLA pediátrica, sendo que em cinco deles (62%) a suplementação de folato está associada a risco nulo, enquanto em 3 estudos (38%) houve associação inversa estatisticamente significativa (Figura 3). Destes que encontraram associação inversa, um foi realizado na Austrália (Thompson *et al.* 2001), um na França (AMIGOU *et al.*, 2012) e um em consórcio entre 10 países (Estados Unidos, França, Austrália, Canadá, Brasil, Alemanha, Costa Rica, Grécia, Egito e Nova Zelândia) (METAYER *et al.*, 2014).

Suplementação materna durante a gestação

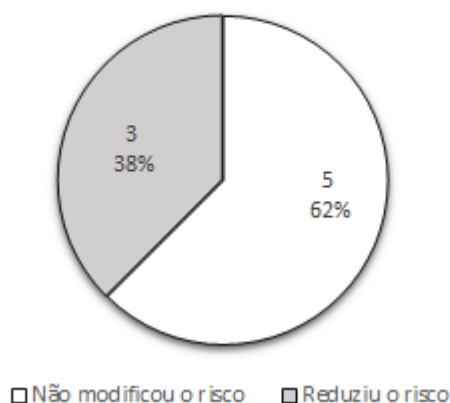


Figura 3: Efeito da suplementação materna durante a gestação sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo realizado na França por Amigou e cols. (2012) identificou efeito protetor da suplementação exclusivamente no período gestacional apenas quando esta era realizada no terceiro trimestre de gestação (OR = 0,2 e 95%IC = 0,1 - 0,8). Durante o segundo trimestre, o efeito não foi estatisticamente significativo. Não foi analisado o efeito da suplementação exclusivamente no primeiro trimestre.

Artigo publicado por Metayer e cols. (2014) reuniu dados obtidos em 10 países (Estados Unidos, França, Austrália, Canadá, Brasil, Alemanha, Costa Rica, Grécia, Egito e Nova Zelândia) de quatro continentes, de estudos publicados previamente ou não. Para análise da relação entre suplementação materna com ácido fólico e o risco para LLA pediátrica, o número de casos foi de 3002 e de controles, 5588. Em modelo de análise ajustado pela instituição de origem do estudo, houve associação inversa entre a suplementação de folato e a ocorrência da doença.

Três estudos analisaram a relação entre a suplementação exclusivamente em período anterior à gestação e o risco para LLA pediátrica, sendo que em dois (75%), não foi observada associação entre as variáveis, e um (25%), mostrou efeito protetor da suplementação de folato para a doença (Figura 4). O consórcio realizado por Metayer e cols. (2014), no modelo de análise ajustado pela instituição de origem do estudo, foi o único que identificou efeito protetor da suplementação de ácido fólico exclusivamente no período anterior à gestação (OR = 0,82 e 95%IC = 0,70 - 0,96). Ajrouche e cols. (2014), assim como Milne e cols. (2010) não encontraram relação estatisticamente significativa entre as variáveis.

Suplementação materna antes da gestação

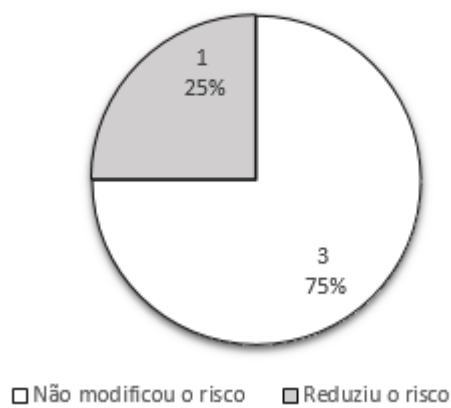


Figura 4: Efeito da suplementação materna antes da gestação sobre o risco para LLA pediátrica.

Dois estudos analisaram o efeito sobre o risco para LLA pediátrica quando a suplementação materna foi realizada antes e/ou após a gestação. Amigou e cols. (2012), na França, encontraram associação inversa entre as variáveis, tanto quando a suplementação ocorreu antes ou no primeiro semestre de gestação, quanto em análise incluindo mães que suplementaram o nutriente antes ou em qualquer semestre da gestação. O consórcio realizado por Metayer e cols. (2014) também verificou efeito protetor da suplementação realizada antes ou durante a gestação.

A hipótese de que a suplementação materna com ácido fólico é capaz de reduzir o risco para LLA pediátrica baseia-se no mecanismo de ação deste nutriente, necessário à metilação, síntese e reparo do DNA (AMIGOU *et al.*, 2012), bem como na provável origem intra-uterina da patogênese da LLA (GREAVES & WIEMELS, 2003). Ainda não se sabe se as taxas de incidência de leucemias pediátricas poderiam ser reduzidas após a implantação de programas de fortificação de alimentos com ácido fólico.

Dois estudos epidemiológicos, ambos realizados na província de Ontário no Canadá compararam as taxas de incidência de leucemias pediátricas em período anterior e posterior à fortificação obrigatória de farinhas com ácido fólico. French e cols. (2003) não encontraram relação entre a fortificação e a incidência da doença (OR = 0,97 e 95%IC = 0,41 – 2,27). Semelhantemente, Grupp e cols. (2011), também no Canadá, não observaram alteração de incidência da doença entre ambos os períodos (OR = 1,06 e 95% IC = 0,94 – 1,20).

O número de estudos disponíveis na literatura, do tipo caso-controle, que investigaram a relação entre a suplementação peri-gestacional e o risco para LLA pediátrica na prole ainda é pequeno, e com heterogeneidade metodológica que gera ausência de consenso entre os resultados. Em alguns casos, foram incluídos indivíduos suplementados apenas com folato, bem como juntamente com outros nutrientes. Este é o caso do trabalho realizado por Shaw e cols. (2004), no qual o folato foi suplementado associado ou não a outras vitaminas. Outro estudo, realizado por Milne e cols. (2010) analisou o efeito da suplementação de ácido fólico associada ou não a ferro, sem demonstrar relação estatisticamente significativa com o risco para LLA. Este resultado foi utilizado para este estudo, já que a presença de outros nutrientes não foi considerada um critério de exclusão. Em análise da

suplementação de folato sem ferro, foi encontrada associação inversa (OR = 0,71 e 95%IC = 0,51 – 0,98) para suplementação realizada antes ou no primeiro trimestre de gestação. Para o segundo e terceiro trimestres, não houve relação significativa. Já Thompson e cols. (2001) analisaram apenas o efeito do folato associado ou não ao ferro, sem isolar o efeito do ácido fólico. Neste estudo australiano, foi observada forte relação inversa com o risco para LLA (OR = 0,4 e 95%IC = 0,21 – 0,73). Em contrapartida, Dockerty e cols. (2007), na Nova Zelândia, analisaram apenas o efeito da suplementação de ácido fólico na presença ou ausência de ferro, e não foi encontrada relação entre a suplementação e o desfecho (OR = 1,1 e 95%IC = 0,5 – 2,7).

As evidências de que a suplementação materna com ácido fólico seja capaz de reduzir o risco para a ocorrência de LLA pediátrica são limitadas, sendo que os resultados para a suplementação durante a gestação são mais promissores quando comparados aos em mulheres em período pré-gestacional. Há ausência de consenso quanto às variáveis selecionadas e fatores de confusão avaliados. Os estudos apresentam deficiências metodológicas como a não avaliação da ingestão de álcool (inibidor do metabolismo dos folatos), da dosagem de folato suplementado utilizada e do uso de suplementos contendo outros nutrientes. Esta revisão sinaliza para a necessidade de maior esforço científico na formação de força de evidência sobre este tema.

Tabela 1: Efeito da suplementação materna peri-gestacional com ácido fólico sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Pareamento dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Período da suplementação	Odds ratio (95%IC)	Valor-P
SUPLEMENTAÇÃO MATERNA PERI-GESTACIONAL											
Ajruche <i>et al.</i>	2014	França	636	1421	< 15	Idade e gênero	Idade, gênero, profissão materna, idade materna ao parto	Não houve relação entre suplementação de folato peri-gestacional e o risco para LLA	Trimestre anterior à gestação 1º trimestre da gestação 2º trimestre da gestação 3º trimestre da gestação	0,7 (0,5 – 1,1), 1,1 (0,9 – 1,5), 1,1 (0,9 – 1,5), 1,2 (0,9 – 1,6).	ND ND ND ND
Amigon <i>et al.</i>	2012	França	648	1681	< 15	Idade e gênero	Aleitamento materno, doenças congênitas	Suplementação peri-gestacional reduziu o risco para LLA	Antes da gestação ou 1º trimestre 2º trimestre 3º trimestre Antes ou em qualquer período da gestação	0,3 (0,2 – 0,7) 0,6 (0,3 – 1,1) 0,2 (0,1 – 0,8) 0,4 (0,3 – 0,6)	ND ND ND ND
Bailey <i>et al.</i>	2012	Austrália	333	695	< 15	Gênero; idade, Estado de residência	Gênero, idade, ingestão de álcool materna, escolaridade dos pais, ordem de nascimento	Não houve relação entre suplementação durante a gestação e o risco para LLA	Durante a gestação	1,05 (0,75 – 1,48)	ND
Dockerty <i>et al.</i>	2007	Nova Zelândia	97	303	< 15	Gênero; idade	Gênero; idade; estado civil materno; escolaridade materna	Não houve relação entre Suplementação durante a gestação e o risco para LLA	Durante a gestação	1,1 (0,5 – 2,7)	ND
Metayer <i>et al.</i>	2014	Austrália, Canadá, França, Alemanha, Nova Zelândia, EUA, Brasil, Costa Rica, Egito, Grécia.	3002	5588	< 15	NA	Idade, gênero, etnia, escolaridade dos pais e estudo	Suplementação peri-gestacional reduziu o risco para LLA	Antes da gestação Durante a gestação Antes ou durante a gestação	0,82 (0,70 – 0,96) 0,77 (0,67 – 0,88) 0,8 (0,71 – 0,89)	ND ND ND
Milne <i>et al.</i>	2010	Austrália	393	1249	< 15	Idade, gênero, local de residência	Etnia, ordem de nascimento, idade materna, escolaridade dos pais	Não houve relação entre suplementação de folato peri-gestacional e o risco para LLA	Mês anterior à gestação, 1º trimestre da gestação 2º e 3º trimestres da gestação	0,99 (0,75 – 1,31), 1,19 (0,91 – 1,56) 0,83 (0,44 – 1,6)	ND ND ND
Shaw <i>et al.</i>	2004	Canadá	789	789	< 15	Gênero e idade	Escolaridade materna e idade	Não houve relação entre suplementação durante a gestação e o risco para LLA	Durante a gestação	1,0 (0,8 – 1,2)	ND
Thompson <i>et al.</i>	2001	Austrália	83	166	< 15	Idade, gênero, local de moradia (urbano ou rural)	Exposição a toxinas durante a gestação; exposição materna a toxinas durante os 05 anos anteriores à gestação; local de nascimento e idioma falado pelos pais.	Suplementação durante a gestação reduziu o risco para LLA de células B precursoras	Durante a gestação	0,4 (0,21 – 0,73)	0,003

ND: não disponível. NA: não aplicável. 95% IC: intervalo de confiança de 95%. Peri-gestacional: período anterior e/ou durante a gestação.

4.1.2. Suplementação de crianças com ácido fólico

Dockerty e cols. (2007) testaram na Nova Zelândia se a suplementação de crianças com ácido fólico seria um possível fator capaz de alterar o risco para LLA em crianças e jovens adolescentes (Tabela 2). Os autores não encontraram relação entre a suplementação com ácido fólico e o desfecho (OR = 1 e 95%IC = 0,4 – 2,8). A suplementação com ácido fólico não é rotineiramente realizada nessa faixa etária, o que resultou em um número reduzido de crianças suplementadas no estudo em questão (seis entre 96 crianças). A ausência de outros trabalhos sobre este tema impossibilita uma conclusão definitiva sobre este.

4.1.3. Ingestão alimentar de folato

A ingestão materna de folato via alimentos foi relacionada com o risco para LLA por estudo realizado por Bailey e cols. (2012). A mensuração da ingestão foi realizada através de questionário de frequência alimentar. A ingestão superior a 455mcg, porém, inferior a 624mcg foi inversamente associada com o risco para LLA em crianças com idade inferior a 15 anos ao diagnóstico. Nesta faixa de ingestão está incluída a recomendação diária de folato para gestantes preconizada pelo *Institute of medicine* (IOM) (2004), de 600mcg/dia, o que corrobora com a hipótese de que uma ingestão suficiente de folato pela mãe seja capaz de prevenir a ocorrência de LLA pediátrica na prole.

Os mesmos autores em 2014 publicaram um estudo que investigou a associação entre a ingestão paterna de folato e o risco para LLA em amostra de 285 casos e 595 controles. Os autores não encontraram relação entre as variáveis (BAILEY *et al.* 2014).

A complexidade da mensuração fidedigna da ingestão de nutrientes pode ser a causa da escassez de estudos que relacionem a ingestão via alimentos com o risco para LLA, o que impossibilita qualquer inferência concreta sobre este tema. Um ponto fraco desta investigação é a necessidade de ajuste para a ingestão de bebidas alcólicas. A súmula dos dados extraídos de ambos os estudos encontra-se na Tabela 3.

Tabela 2: Efeito da suplementação de crianças com ácido fólico sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Pareamento dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Período da suplementação	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Dockerty <i>et al.</i>	2007	Nova Zelândia	97	303	< 15	Gênero; idade	Gênero; idade; estado civil materno; escolaridade materna	Não houve relação entre suplementação durante a infância e o risco para LLA	Por pelo menos 05 dias seguidos, antes dos 06 meses anteriores ao diagnóstico	1,0 (0,4 – 2,8)	ND

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Tabela 3: Efeito da ingestão alimentar de folato pelos pais sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Pareamento dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Níveis de ingestão (mcg)	Odds ratio (95%IC)	P-valor
INGESTÃO MATERNA											
Bailey <i>et al.</i>	2012	Austrália	333	695	< 15	Gênero; idade, Estado de residência	Gênero, idade, ingestão de álcool materna, escolaridade dos pais, ordem de nascimento	Ingestão alimentar materna de folato, mensurada através de questionário de frequência alimentar, reduziu o risco para LLA, quando em dosagens entre 454 e 624mcg	<395	Referência	ND
									395 – 454	0,68 (0,44 – 1,06)	ND
									455 – 524	0,58 (0,37 – 0,91)	ND
									525 – 624	0,44 (0,27 – 0,71)	ND
									>624	0,7 (0,44 – 1,12)	ND
INGESTÃO PATERNA											
Bailey <i>et al.</i>	2014	Austrália	285	595	< 15	Gênero; idade, Estado de residência	Gênero, idade, ingestão energética, escolaridade paterna, tabagismo paterno, idade do pai, ordem de nascimento, ano de diagnóstico	Não houve relação entre ingestão alimentar paterna de folato, mensurada através de questionário de frequência alimentar, e o risco para LLA	≤ 390 391 – 503 >503	Referência 0,85 (0,59 – 1,24) 0,87 (0,58 – 1,29)	ND ND ND

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

4.2. Suscetibilidade genética conferida por polimorfismos em genes do ciclo dos folatos

A estratégia de busca utilizada identificou 491 estudos provenientes das seguintes bases de dados: Medline (n = 185); Web of Science (n = 156); Lilacs (n = 11); e Scopus (n = 139). Dois estudos foram resgatados de listas de referências de artigos originais e revisões. Após exclusão das duplicatas, 328 estudos tiveram seus títulos e resumos lidos, sendo que 272 foram excluídos por não se enquadrarem no critérios de inclusão, um estudo foi excluído devido ao idioma, e outro teve seu acesso ao texto completo indisponível. Foram lidos na íntegra 54 estudos, dos quais excluíram-se 14 pelos seguintes motivos: inclusão de indivíduos com idade igual ou superior a 20 anos na coorte de casos (n = 6); ausência de grupo controle (n = 3); apresentação de resultados já publicados em outro artigo (n = 2), carta ao editor (n = 1); inclusão de indivíduos com LMA (n = 1) e investigação do efeito de alelos, e não de genótipos, sobre o risco para LLA (n = 1). Por fim, um total de 40 estudos foram incluídos nesta revisão, e seus dados foram extraídos e organizados em tabelas de acordo com os polimorfismos estudados para cada gene do ciclo do folato. A Figura 5 ilustra o fluxograma de busca e seleção dos estudos.

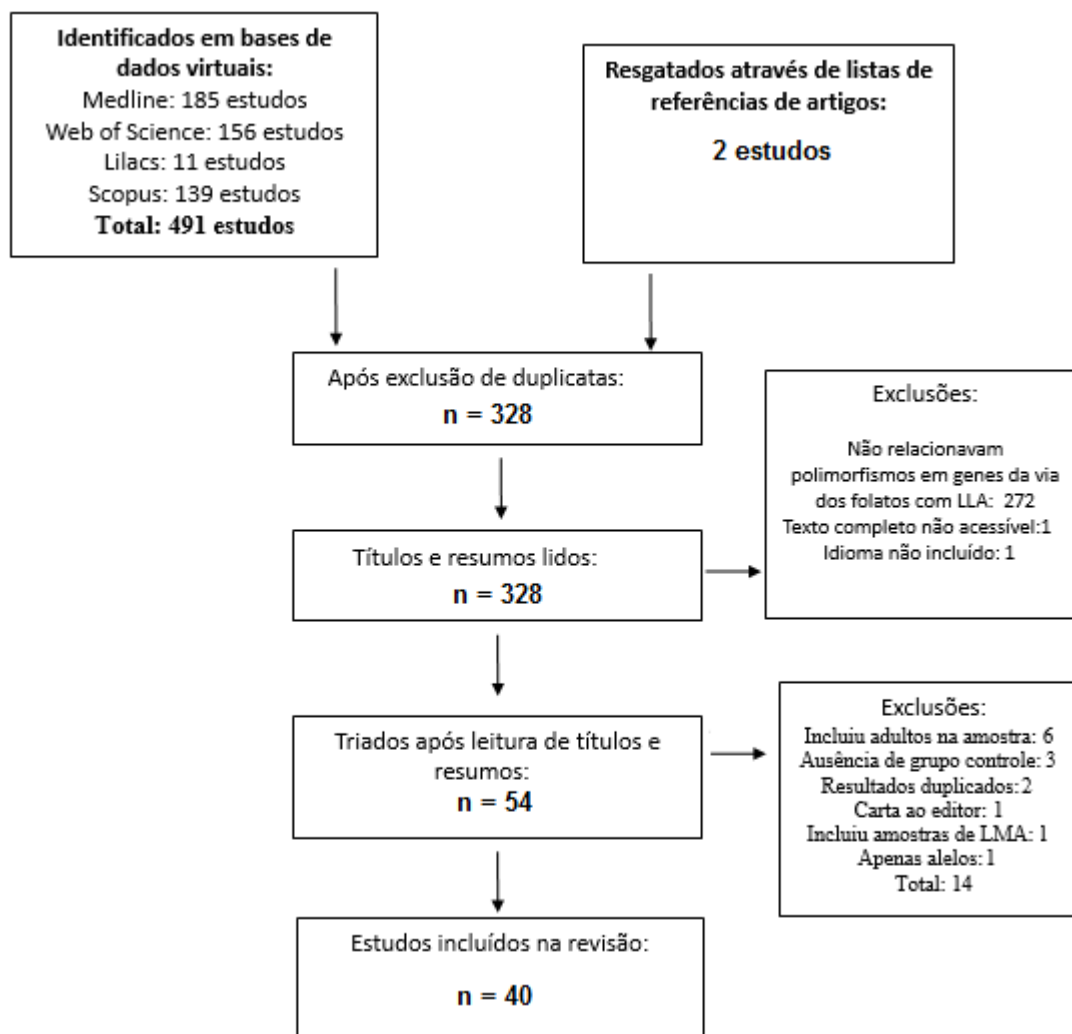


Figura 5: Diagrama de fluxo da busca e seleção dos estudos para suscetibilidade determinada por variantes em genes do ciclo dos folatos.

4.2.1. Polimorfismos no gene *MTHFR*

O gene *MTHFR* localiza-se no cromossomo 1 (1p36.3), e codifica a proteína Metiltetrahidrofolato redutase, responsável pela conversão de 5,10-metileno-THF a 5-metil-THF. Esta é uma importante etapa para o ciclo de metilação, dependente de 5-metil-THF e para a síntese de purinas, que utiliza 5,10-metileno-THF como cofator (Goričar *et al.* 2014).

A alteração mais estudada para este gene é o polimorfismo *MTHFR* C677T (rs1801133), capaz de reduzir a atividade da MTHFR em 30 a 65%. Esta variante tem sido largamente pesquisada quanto à sua relação com a LLA pediátrica. O possível efeito protetor deste polimorfismo sobre a doença pode estar relacionado ao acúmulo de 5-10-metileno-THF, e por consequência, aumento da síntese de timidilato e redução da incorporação de uracila ao DNA, evitando ruptura da estrutura da dupla-hélice (SOOD *et al.*, 2009).

O polimorfismo *MTHFR* A1298C (rs1801131) também é descrito como possível alterador da função enzimática, reduzindo sua atividade em 50 a 60%. A significância biológica desta enzima é questionada, visto que ela parece não afetar a homocisteína sérica de indivíduos ligeiramente insuficientes em folato. É possível que apenas na deficiência da vitamina esta variante tenha efeito (METAYER *et al.*, 2011; ALCASABAS *et al.*, 2008).

Polimorfismos no gene *MTHFR* foram estudados como possíveis fatores associados ao risco para LLA por 34 artigos, dos quais 17 foram realizados na Ásia, 12 na Europa, três na América do Sul e dois na África, o que demonstra uma heterogeneidade étnica na compilação dos resultados. As investigações realizadas por Yeoh e cols. (2010) demonstraram resultados diferentes para duas populações etnicamente distintas (chineses e malaios). Nesta revisão, ambos os resultados foram considerados estudos independentes nas tabelas e gráficos. A tabela contendo os dados referentes aos estudos com polimorfismos no gene *MTHFR* encontra-se no apêndice C. Os principais resultados para polimorfismos neste gene foram compilados na Figura 7 e na Figura 9, com as análises estatísticas de cada estudo.

Foram incluídos nesta revisão, 34 estudos que abordaram a relação entre este polimorfismo *MTHFR* C677T e o risco para LLA pediátrica, entre os quais, 23 não encontraram associação estatisticamente significativa entre a ocorrência do

polimorfismo e o desfecho. Foi demonstrado por nove estudos que a presença do polimorfismo exerce proteção para LLA, enquanto que em dois (6%), houve elevação do risco entre portadores da variante (Figura 6).

Em metanálise de 11 estudos caso-controle realizada por Pereira e cols. (2006), não foi demonstrada relação estatisticamente significativa entre este polimorfismo e risco para LLA (OR = 0,88 e 95%IC = 0,73 - 1,06). Em contrapartida, Yan e cols. (2012), em metanálise de 21 estudos, associaram a presença da variante à proteção para LLA (OR = 0,83; 95%CI = 0,72 – 0,95). Mais recentemente, Li e cols. (2015) avaliaram 35 estudos quanto ao efeito do alelo T sobre o risco para a doença, mas não observaram associação estatisticamente significativa (OR = 0,92 e 95%IC = 0,84 – 1,01).

Polimorfismo MTHFR C677T

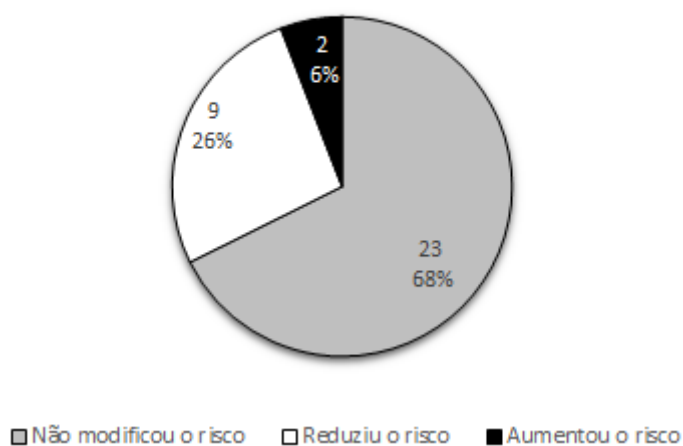


Figura 6: Efeito do polimorfismo *MTHFR* C677T sobre o risco para LLA pediátrica.

A relação entre esta variante e o risco para LLA pode ser influenciada por fatores ambientais e genéticos. O efeito da etnia foi testado em diferentes regiões geográficas brasileiras em estudo realizado por Zanrosso e cols. (2006), no qual crianças não-brancas apresentaram redução do risco relacionado com a presença de uma ou duas cópias do alelo T (OR = 0,43 e 95%IC = 0,22 – 0,86), enquanto que crianças brancas não apresentaram relação de suscetibilidade genética do polimorfismo *MTHFR* C677T com LLA.

Interações gene-gene vêm sendo descritas para este polimorfismo. O estudo realizado por Atashrazm e cols. (2011) demonstrou que indivíduos com a combinação *MTHFR* 677-TT e *MTHFR* 1298-AA apresentaram significativa redução do risco para LLA pediátrica (OR = 0,17 e 95%IC = 0,01 – 0,14), enquanto outras combinações não demonstraram efeito. Em estudo realizado por Kamel e cols. (2007), apenas a combinação 677-CT e 1298-AC demonstrou reduzir o risco para LLA (OR = 0,27 e 95%IC = 0,15 – 0,9).

Há possibilidade de o estado nutricional de folato influenciar a relação entre o polimorfismo C677T e o risco para LLA. Sabe-se que indivíduos homocigotos para o polimorfismo, porém com ingestão suficiente do nutriente apresentam níveis normais de homocisteína. Desta forma, o polimorfismo não acarretaria em hipometilação do DNA (KIM, 2000). Um estudo realizado por Krajcinovic e cols. (2004) demonstrou que o *MTHFR* C677T é fator de proteção apenas entre as crianças canadenses que nasceram em período próximo à campanha de suplementação com ácido fólico.

O polimorfismo *MTHFR* C677T pode influenciar o risco para leucemias com subtipos moleculares específicos. Em estudo realizado por Wiemels e cols. (2001), a presença da variante foi relacionada com proteção para LLA ou LMA com rearranjo de *MLL*, mas não para LLA com *ETV6/RUNX1* ou hiperdiploidia.

Não há consenso quanto ao papel do polimorfismo *MTHFR* C677T na modulação do risco para a ocorrência da LLA pediátrica. Embora 23 (76,6%) dos 30 estudos que explicitaram a OR, tenham demonstrado associação inversa ainda que não estatisticamente significativa com o risco para LLA (Figura 7), associação inversa significativa foi descrita por apenas 26% dos estudos incluídos nesta revisão. Diversas pesquisas sugerem que a ação deste polimorfismo é modulada por outros fatores genéticos e ambientais, o que pode estar relacionado à ocorrência de resultados conflitantes.

POLIMORFISMO MTHFR C677T

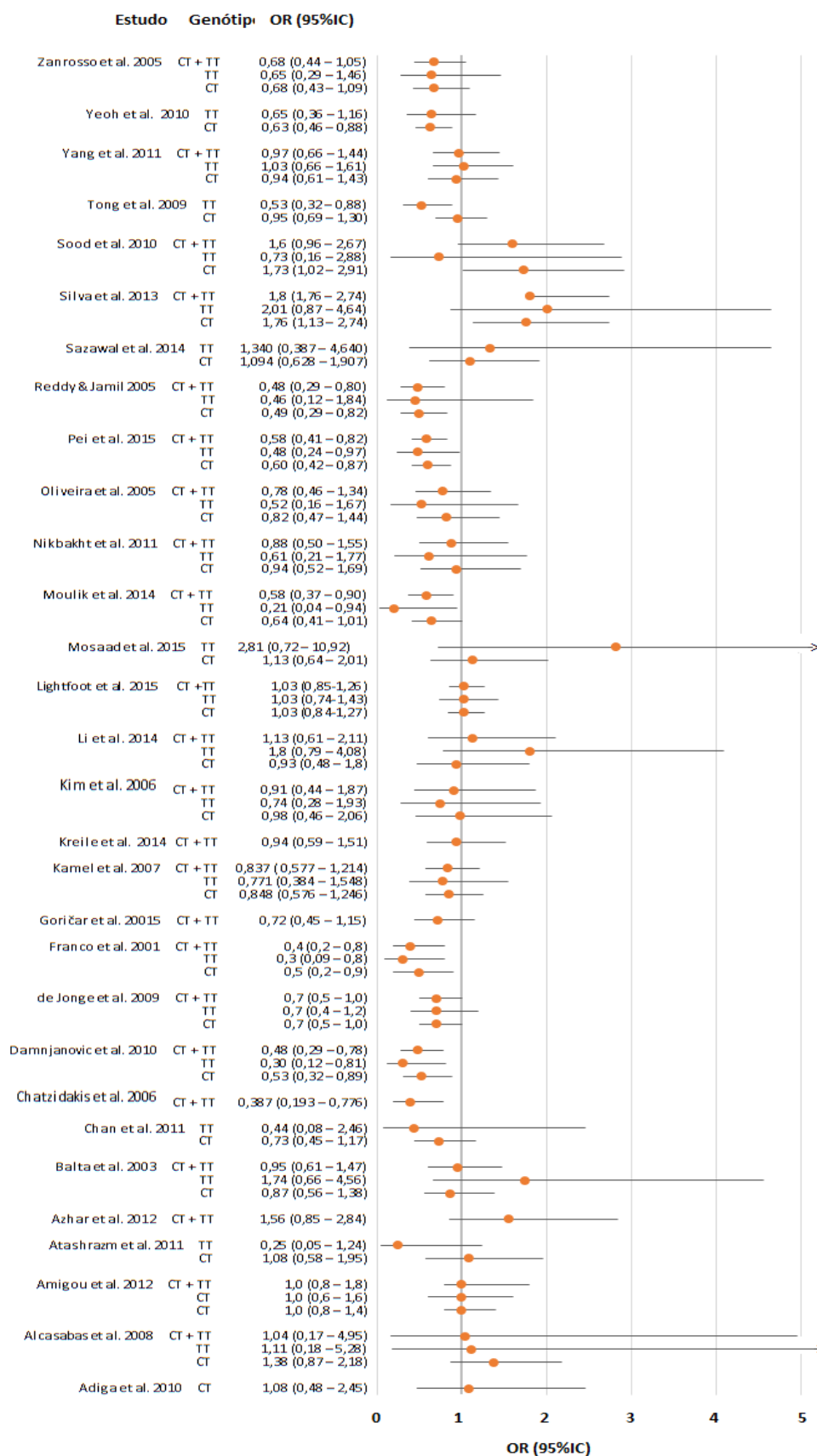


Figura 7: Efeito do polimorfismo *MTHFR* C677T sobre o risco para LLA pediátrica. OR: odds ratio; 95%IC: intervalo de confiança de 95%.

Entre os estudos incluídos, 34 pesquisaram a relação entre a presença da variante *MTHFR* A1298C e o risco para LLA pediátrica, sendo que em 26 (76%) destes não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis. Quatro estudos encontraram proteção entre os portadores da variante, enquanto que outros quatro associaram o polimorfismo ao aumento do risco para a doença (Figura 8).

Polimorfismo *MTHFR* A1298C

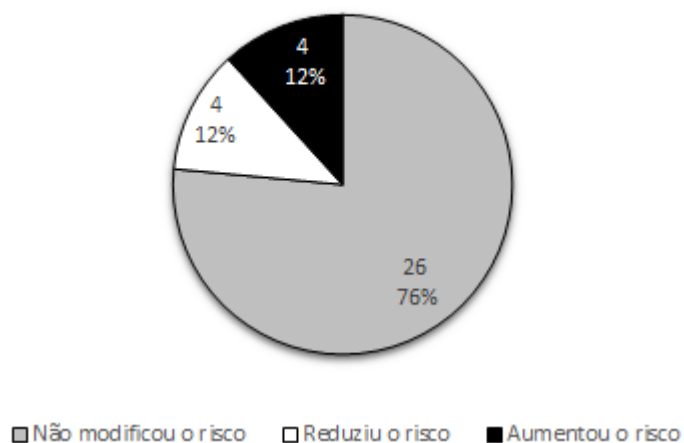


Figura 8: Efeito do polimorfismo *MTHFR* A1298C sobre o risco para LLA pediátrica.

Quatro estudos que demonstraram elevação do risco foram realizados na Ásia, enquanto os estudos que apontaram para a proteção à doença conferida pelo polimorfismo foram realizados na Europa (n = 1), Ásia (n = 1), América do Sul (n = 1) e na África (n = 1). Este fato indica que possa haver interferência importante da etnia na relação entre esta variante genética e o risco para LLA pediátrica.

Pereira e cols. (2006) realizaram uma metanálise de 11 estudos, que falhou em associar o polimorfismo *MTHFR* A1298C ao risco para LLA (OR = 0,88 e 95%IC = 0,73 – 1,06). Semelhantemente, metanálise realizada por Yan e cols. (2012) incluiu 17 estudos e demonstrou associação nula entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA (OR = 1,02 e 95%IC = 0,89 – 1,17).

Um estudo realizado por Alcasabas e cols. (2008) em amostra de 188 crianças filipinas com LLA demonstrou que nesta população, a presença do polimorfismo é capaz de elevar o risco para a doença, sendo que este efeito é maior em crianças com os dois alelos variantes (OR = 1,48 e 95%IC = 1,00 – 2,19 para o genótipo AC; OR = 1,86 e 95%IC = 1,11 – 3,10 para o genótipo CC). Já Lightfoot e cols. (2007) incluíram 759 crianças alemãs com LLA e demonstraram redução do risco associada ao polimorfismo (OR = 0,79 e 95%IC = 0,65 – 0,97). A hipótese mais plausível para essa discrepância entre os resultados é que este polimorfismo aumente o risco em populações com baixos níveis de folato sérico, e confira proteção quando há suficiência neste nutriente (LIGHTFOOT *et al.* 2007).

Os subtipos de LLA podem ser diferentemente influenciados por este polimorfismo, como demonstrou estudo realizado por Lightfoot e cols. (2010), em que o risco para LLA-B foi inversamente relacionado com a presença da variante (OR = 0,75 95%IC = 0,61 – 0,93), enquanto a LLA-T não teve seu risco modificado. O estudo também demonstrou diferenças na relação do polimorfismo entre os diferentes subtipos moleculares da doença. Apenas leucemia com o gene de fusão *ETV6/RUNX1* teve o risco reduzido pelo polimorfismo (OR = 0,52 e 95%IC = 0,33-0,81), sendo que o rearranjo do gene *MLL* e a hiperdiploidia não foram associados à mutação. Já Wiemels e cols. (2000) demonstraram que o genótipo CC pode reduzir o risco para leucemia com hiperdiploidia (OR = 0,31 e 95%IC = 0,11–0,86), mas não com rearranjo de *MLL* ou gene de fusão *ETV6-RUNX1*.

Este polimorfismo pode ter o efeito sobre o risco para LLA modificado pela presença de outras variantes genéticas e em função do gênero. Em um estudo

realizado por Yeoh e cols. (2009), o genótipo 1298-AA deste polimorfismo reduziu o risco para LLA em meninos que também eram heterozigotos para *SLC19A1* A80G. O *MTHFR* C677T, em heterozigose, foi protetor apenas em meninos que também eram homozigotos selvagens para *MTHFR* A1298C. Nenhuma interação foi observada em meninas.

Entre os 28 estudos que explicitaram a OR para este polimorfismo, 14 (50%) encontraram associação inversa ainda que não estatisticamente significativa para a presença de uma ou duas cópias do alelo variante (Figura 9). Os resultados para este polimorfismo são conflitantes e demonstram que este pode apresentar-se como fator de risco ou proteção a depender de fatores como etnia, gênero, genética e estado nutricional para folato.

POLIMORFISMO MTHFR A1298C

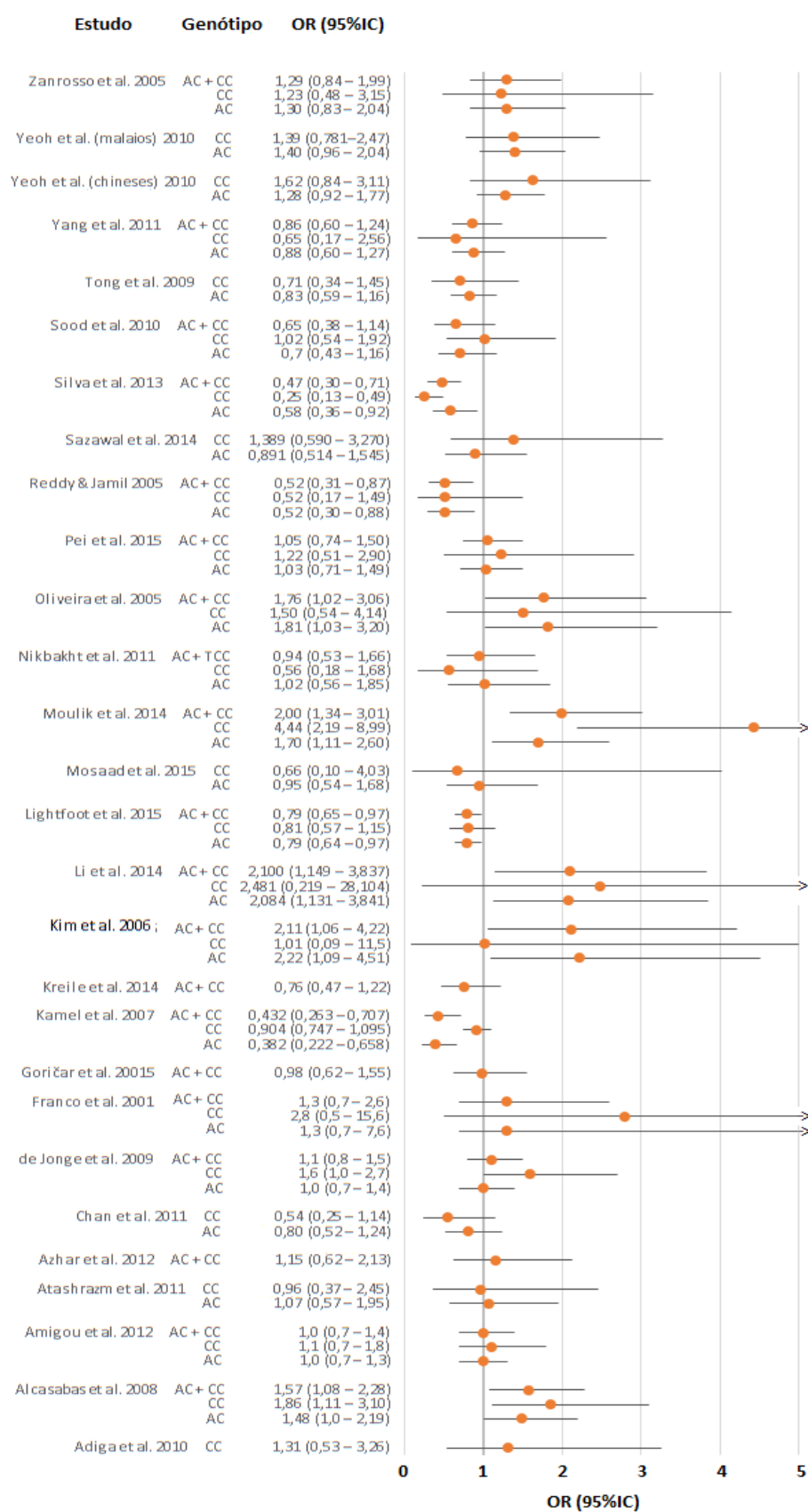


Figura 9: Efeito do polimorfismo *MTHFR* A1298C sobre o risco para LLA pediátrica. OR: odds ratio; 95%IC: intervalo de confiança de 95%

4.2.2. Polimorfismos no gene *MTRR*

O gene *MTRR*, localizado no cromossomo 5p15.31, codifica a proteína Metionina Sintase Redutase, que atua na manutenção dos níveis de metilcobalamina, essencial para a função da enzima Metionina Sintase, que por sua vez sintetiza metionina a partir de homocisteína. A perda da função deste gene resulta em hiper-homocisteinemia e deficiência do sistema de metilação (METAYER *et al.*, 2011; GAUGHAN *et al.*, 2001).

Uma frequente variante polimórfica, *MTRR* A66G (rs1801394), resulta em substituição do resíduo de aminoácido isoleucina por metionina na posição 22, resultando em redução da atividade da proteína (SCAZZONE *et al.*, 2009). Mais recentemente descritas, as variantes *MTRR* C524T (rs1532268), *MTRR* A1049G (rs162036) e *MTRR* C1783T (rs10380) acarretam respectivamente em substituição de serina por leucina na posição 175 da proteína, histidina por tirosina na posição 595, e lisina por arginina na posição 350. Aparentemente, as três variantes reduzem a função enzimática e estão relacionadas com aumento da homocisteína sérica (WANG *et al.* 2013; FONG *et al.* 2011).

A estratégia de busca utilizada nesta revisão identificou seis estudos que investigaram o efeito de quatro polimorfismos no gene *MTRR* sobre o risco para LLA pediátrica (Tabela 4).

O risco para LLA pediátrica relacionado à presença do polimorfismo *MTRR* A66G foi estudado em todos os seis trabalhos. Destes, cinco foram realizados na Europa e um na Ásia. Ausência de associação entre a presença desta variante em heterozigose ou homozigose foi descrita por cinco (83%) estudos, enquanto que um (17%) encontrou redução do risco para a doença associada à presença do genótipo homozigoto variante (Figura 10).

Polimorfismo MTRR A66G

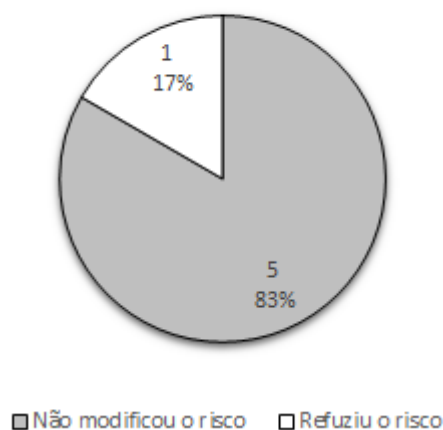


Figura 10: Efeito do polimorfismo *MTRR* A66G sobre o risco para LLA pediátrica.

Apenas o estudo realizado por Gast e cols. (2007) na Alemanha identificou associação inversa entre a presença do polimorfismo *MTRR* A66G e o risco para LLA (OR = 0,6 e 95%IC = 0,4 – 0,9, para o genótipo GG). O mesmo estudo sugere a existência de interação entre a presença dos polimorfismos A66G e C524T no gene *MTRR* para a modulação do risco. A combinação dos genótipos 66-AA e 524-CC apresentou relação direta com o desfecho (OR = 1,8 e 95%IC = 1,2 – 2,8), enquanto que 66-GG e 524-CC, combinados, conferem proteção (OR = 0,6 e 95%IC = 0,3 – 0,9).

O polimorfismo *MTRR* C524T teve o risco para LLA pediátrica investigado por três estudos, sendo que não foi observada relação significativa entre as variáveis em nenhum dos trabalhos (AMIGOU *et al.*, 2012; GAST *et al.*, 2007; LAUTNER-CSORBA *et al.* 2013). Semelhantemente, os polimorfismos *MTRR* A1049G e *MTRR* C1783T foram abordados por dois estudos cada, sem que tenha sido observada alteração do risco para a doença (GAST *et al.* 2007; LAUTNER-CSORBA *et al.* 2013).

A relação entre polimorfismos no gene *MTRR* e a LLA pediátrica foi pouco explorada pela literatura até o momento. A variante *MTRR* A66G foi a mais estudada, e esta revisão não aponta para a existência de efeito desta variante isoladamente sobre o risco para LLA. É possível que interações gene-gene e gene-ambiente modifiquem o papel deste polimorfismo na patogênese da LLA. O pequeno número de estudos que analisou o papel dos polimorfismos *MTRR* C524T, *MTRR*

A1049G e *MTRR* C1783T na etiologia da LLA não possibilita uma conclusão a respeito deste tema.

Tabela 4: Efeito de polimorfismos no gene *MTRR* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTRR A66G											
Referência: AA											
<i>Amigou et al.</i>	2012	França	409	441	< 15	Pareados por idade e gênero	Aleitamento materno, doenças congênitas	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG AG + GG	0,7 (0,5 – 1,0) 0,8 (0,5 – 1,2) 0,7 (0,5 – 1,0)	ND ND ND
<i>de Jonge et al.</i>	2009	Holanda	242	498	<18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG AG + GG	0,8 (0,6 – 1,2) 0,7 (0,5 – 1,1) 0,8 (0,5 – 1,1)	0,31 0,17 0,20
<i>Gast et al.</i>	2007	Alemanha	456	549	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	AG GG	0,7 (0,5 – 1,0) 0,6 (0,4 – 0,9)	ND ND
<i>Lautner-Csorba et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG + GG	ND	ND
<i>Petra et al.</i>	2007	Eslovênia	68	258	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG + GG	ND	ND
<i>Yang et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG AG + GG	1,12 (0,80 – 1,57) 0,86 (0,41 – 1,79) 1,08 (0,78 – 1,51)	0,519 0,689 0,633

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Tabela 4: Efeito de polimorfismos no gene *MTRR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação)

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTRR C524T											
Referência: CC											
Amigou <i>et al.</i>	2012	França	434	441	< 15	Pareados por idade e gênero	Aleitamento materno, doenças congênitas	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1,3 (0,9 – 1,7)	ND
									TT	1,0 (0,7 – 1,7)	ND
									CT + TT	1,2 (0,9 – 1,6)	ND
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	453	540	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1,1 (0,8 – 1,4)	ND
									TT	1,1 (0,7 – 1,7)	ND
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND
MTRR A1049G											
Referência: AA											
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	429	534	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG	1,0 (0,7 – 1,4) 0,8 (0,3 – 2,4)	ND ND
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG + GG	ND	ND
MTRR C1783T											
Referência: CC											
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	447	533	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT	1,1 (0,8 – 1,5) 0,7 (0,2 – 3,0)	ND ND
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND

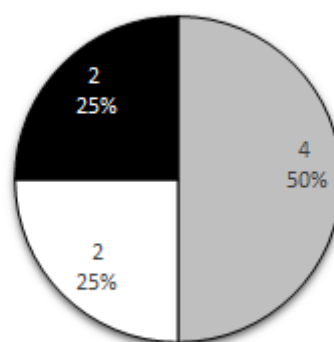
ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

4.2.3. Polimorfismos no gene *SLC19A1*

O gene *SLC19A1*, localizado no cromossomo 21 (21q22.3), codifica a proteína carreadora de folato, responsável pela absorção intestinal e pela captação celular dos folatos (ZHAO & GOLDMAN, 2013). O polimorfismo mais extensivamente estudado para este gene é o *SLC19A1* G80A (rs1051266), localizado no éxon 2, que resulta em substituição de histidina por arginina no resíduo 27 na sequência da proteína. O alelo G está associado a aumento da captação celular de folato e consequente redução dos níveis circulantes deste nutriente. O alelo A por sua vez reduz a captação celular de folato e eleva os níveis circulantes desta substância (DUFFICY *et al.*, 2006; CHAN *et al.* 2011; SILVA *et al.*, 2013).

Este polimorfismo foi investigado quanto a seu papel na modulação do risco para LLA em crianças e adolescentes por oito estudos, cujos dados estão resumidos na Tabela 5. Destes trabalhos, quatro foram realizados na Europa, três na Ásia e um na América do Sul. Em quatro destes (50%) não foi encontrada relação entre as variáveis (KARATHANANISIS *et al.*, 2014; LAUTNER-CSORBA *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2011; YEOH *et al.*, 2011). Associação direta entre a presença da variável e o risco para LLA foi descrita por dois estudos (25%) (DE JONGE *et al.*, 2009; GAST *et al.*, 2007). Outros dois trabalhos (25%) verificaram que o polimorfismo conferiu proteção para a doença (SILVA *et al.*, 2013; CHAN *et al.*, 2011) (Figura 11).

Polimorfismo *SLC19A1* G80A



■ Não modificou o risco □ Reduziu o risco ■ Aumentou o risco

Figura 11: Efeito do polimorfismo *SLC19A1* G80A sobre o risco para LLA pediátrica.

Entre os estudos europeus, dois mostraram elevação do risco e outros dois mostraram ausência de associação entre as variáveis (DE JONGE *et al.*, 2009; GAST *et al.*, 2007; KARATHANASIS *et al.*, 2014; LAUTNER-CSORBA *et al.*, 2013). Entre os asiáticos, dois não verificaram relação significativa, enquanto que um mostrou redução do risco (CHAN *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2011; YEOH *et al.*, 2010). A proteção para a doença foi encontrada também em um estudo realizado no Brasil (SILVA *et al.*, 2013). Em europeus há uma tendência a elevação do risco para LLA pediátrica entre portadores dos genótipos GA e AA, efeito não observado nas demais populações já estudadas. É possível que fatores genéticos e ambientais modulem o efeito deste polimorfismo sobre a patogênese da LLA. Segundo Chan e cols. (2011), pode haver um mecanismo de compensação da comprometida biodisponibilidade de folato relacionada à presença simultânea desta variante e polimorfismos em *MTHFR* e *TYMS*.

O efeito do polimorfismo *SLC19A1* G80A sobre o risco para LLA pediátrica é controverso. Seu papel na leucemogênese parece estar relacionado ao local de proveniência da população de estudo. Apenas pesquisas europeias demonstraram associação direta entre a presença desta variante e o risco para LLA, enquanto que estudos asiáticos e um brasileiro apresentaram associação nula ou inversa.

Tabela 5: Efeito de polimorfismos no gene *SLC19A1* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor	
SLC19A1 G80A												
REFERENCIA: GG												
Chan <i>et al.</i>	2011	Indonésia	184	177	<15	Crianças saudáveis pareadas por etnia	Gênero	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	GA	1,86 (1,14 – 3,05)	ND	
									AA		1,49 (0,83 – 2,66)	ND
de Jonge <i>et al.</i>	2009	Holanda	233	495	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	GA	1,3 (0,9 – 1,9)	0,1	
									AA		2,1 (1,3 – 3,2)	0,002
									GA + AA		1,5 (1,1 – 2,1)	0,02
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	455	542	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	GA	1,4 (1,1 – 1,9)	ND	
									AA		1,0 (0,7 – 1,5)	ND
Karathanasis <i>et al.</i>	2014	Grécia	35	48	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA + AA	ND	0,742	
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA + AA	ND	ND	
Silva <i>et al.</i>	2013	Brasil	95	137	< 20	Pareados por idade	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	GA	0,63 (0,33 – 1,22)	0,23	
									AA		0,38 (0,19 – 0,77)	0,01
									GA + AA		0,5 (0,28 – 0,93)	0,04
Yang <i>et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA	0,99 (0,67 – 1,46)	0,994	
									AA		1,29 (0,81 – 2,07)	0,287
									GA + AA		1,07 (0,74 – 1,54)	0,723
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de malaio)	2010	Malásia e Cingapura	210	319	< 20	Sangue de cordão umbilical	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA	0,781 (0,512 – 1,190)	0,250	
									AA		0,653 (0,389 – 1,095)	0,106

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

4.2.4. Polimorfismos no gene TYMS

O gene *TYMS* está localizado no cromossomo 18 (18p11.32) e codifica a enzima Timidilato Sintase (TS), que catalisa a metilação de deoxiuridilato a deoxitimidilato, utilizando como cofator o 5,10-metileno-THF. A atividade da TS é fundamental para a síntese de timina e redução da incorporação de uracila no DNA (FURUTA *et al.* 2010). A deleção de 6 pares de bases (pb) na região 3'-UTR (*TYMS* 1494del6, rs34489327) desregula a função do gene por mecanismo pós-transcricional, reduzindo a estabilidade do mRNA, e portanto, a produção de TS (LOGANAYAGAM *et al.*, 2013). A repetição em tandem de 28 pb na região 5' UTR (rs34743033) está geralmente presente em duas (28pb2R) ou três cópias (28pb3R). Variantes com maior número de repetições aumentam a afinidade de fatores estimuladores da transcrição deste gene, elevando a produção de TS (LIMA *et al.*, 2007). Foram incluídos nesta revisão 10 estudos que investigaram a relação entre polimorfismos no gene *TYMS* e risco para LLA, e seus dados estão descritos na Tabela 6.

O risco para LLA pediátrica conferido pelo polimorfismo *TYMS* 1494del6 foi investigado por quatro estudos, sendo dois europeus e dois asiáticos (CHAN *et al.*, 2011; GAST *et al.*, 2007; LIGHTFOOT *et al.*, 2015; YEOH *et al.* 2010). Dois trabalhos verificaram associação nula entre polimorfismo e a ocorrência de LLA (CHAN *et al.*, 2011; GAST *et al.*, 2007). Um estudo descreveu aumento do risco relacionado ao genótipo homozigoto para a deleção (6pb-/6pb-) (LIGHTFOOT *et al.*, 2015). Outro estudo mostrou que o genótipo heterozigoto (6pb+/6pb-) está associado com aumento do risco para LLA (YEOH *et al.* 2010) (Figura 12).

Polimorfismo TYMS 1494 del6

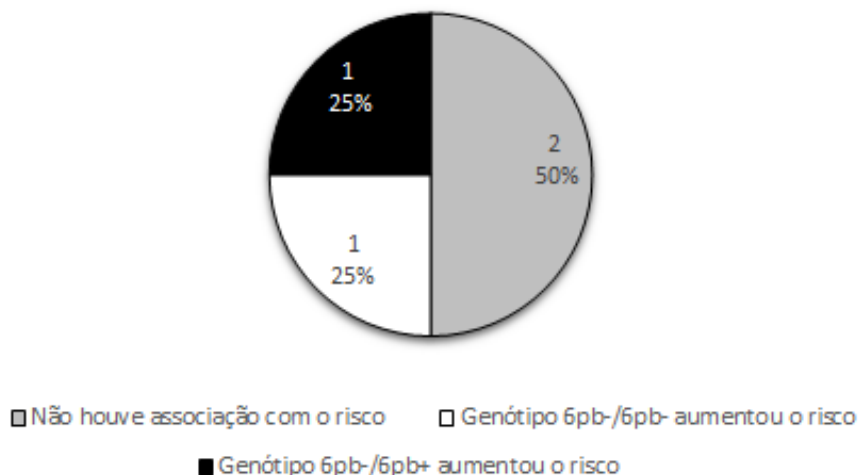


Figura 12: Efeito do polimorfismo *TYMS* 1494del6 sobre o risco para LLA pediátrica.

Os estudos apresentam resultados contraditórios quanto à relação entre *TYMS* 1494del6 e o risco para LLA pediátrica. Enquanto Lightfoot e cols. (2015), no Reino Unido, em amostra de 855 crianças com LLA encontraram associação direta entre o genótipo 6pb- / 6pb- e o risco para LLA pediátrica (OR = 1,4 e IC = 1,2 – 2,08), Yeoh e cols. (2010), em amostra de malaios demonstraram maior risco entre heterozigotos (OR = 1,456 e 95% IC = 1,02 – 2,079), e aumento não significativo para o genótipo 6pb+ / 6pb+ (OR = 1,703 e 95% IC = 0,908 – 3,091).

Estudo realizado por Lightfoot e cols (2015) associou a presença desta variante à hiperdiploidia em crianças com LLA (OR = 1,69 e 95% IC = 1,07-2,68). Associação entre este polimorfismo e o *SLC19A1* G80A foi descrita por Yeoh e cols. (2010): crianças apresentando simultaneamente os genótipos *SLC19A1* 80-GA e *TYMS* 6pb – / 6pb – apresentaram significativa proteção para LLA (OR = 0,056 e 95% IC = 0,007–0,456).

A redução da produção de TS pode causar acúmulo de uridilato e incorporação de uracila ao DNA, aumentando o risco para alterações relacionadas à leucemogênese. Por outro lado, indivíduos que apresentam o alelo 6pb+ apresentam menor nível de folato intracelular, limitando a disponibilidade deste nutriente para conversão de homocisteína em metionina (KEALEY *et al.* 2005). Poucos estudos analisaram o papel deste polimorfismo sobre o risco para LLA. Os resultados são

controversos, não sendo possível uma conclusão definitiva sobre este tema. É possível que a interação deste polimorfismo com variantes em outros genes, a exemplo do *SLC19A1* possa modular o risco para LLA pediátrica.

A influência das variantes *TYMS* 28pb2R e *TYMS* 28pb3R sobre o risco para LLA pediátrica foi investigada por 10 estudos, sendo cinco provenientes da Europa, três da Ásia e dois da América do Sul. Oito trabalhos (80%) não encontraram associação significativa entre as variáveis, enquanto que um (10%) demonstrou associação de proteção para a variante 3R, assim como um outro estudo (10%) mostrou associação de proteção para o alelo 2R (Figura 13).

Polimorfismo *TYMS* 2R/3R

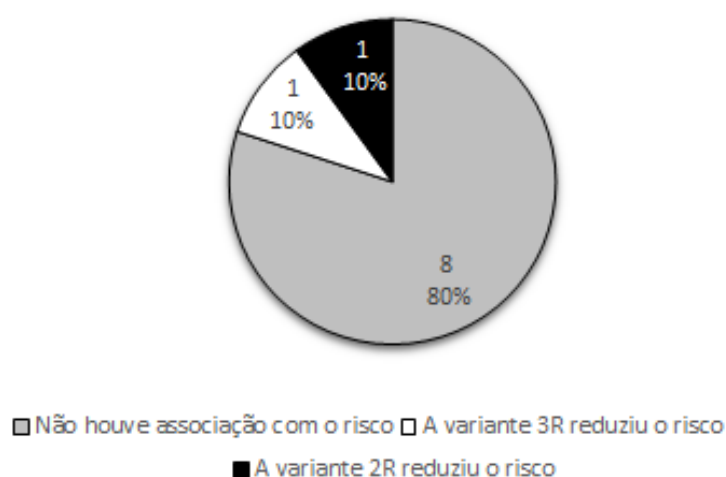


Figura 13: Efeito do polimorfismo *TYMS* 28pb 2R / 3R sobre o risco para LLA pediátrica

Entre os trabalhos incluídos, apenas Canalle e cols. (2011), em estudo realizado no Brasil com amostra de 126 crianças com LLA encontraram associação de proteção para LLA em indivíduos portadores da variante 28pb3R em homozigose ou heterozigose (OR = 0,6 e 95%CI = 0,36 – 0,99). Em amostra de adultos com LLA, Skibola e cols (2002) descreveram resultados semelhantes: o genótipo 2R/3R foi associado com proteção (OR = 0,36 e 95%CI = 0,16 – 0,83), assim como o homozigoto 3R/3R (OR = 0,25 e 95%IC = 0,08 - 0,78). A presença de três repetições desta sequência de 28pb eleva a expressão da TS, e potencialmente reduz a incorporação de uracila no DNA.

Em contrapartida, em estudo realizado por de Jonge e cols. (2009), na Holanda, com 244 crianças com LLA, foi descrita associação de proteção conferida pela presença do alelo 2R em homozigose ou heterozigose (OR = 0,7; 95%IC = 0,5 – 1,0 e P-valor = 0,03). A variante 2R reduz a expressão da TS, o que eleva a biodisponibilidade de folato para realização de reações de transmetilação e evita a hipometilação do DNA com aumento da expressão de genes relacionados à leucemogênese.

Os resultados do presente estudo apontam para a dependência de interações gene-gene e gene-ambiente na determinação do papel das variantes *TYMS* 28pb2R e *TYMS* 28pb3R na etiologia da LLA. Estas variantes podem aumentar ou reduzir o risco para LLA, como afirmam de Jonge e cols (2009), que embora tenham descrito proteção relacionada à presença do alelo 2R, verificaram que a ocorrência mútua dos alelos *SHMT1* 1420T e *TYMS* 3R é capaz de reduzir o risco para LLA.

Tabela 6: Efeito de polimorfismos no gene *TYMS* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
TYMS 1494 del 6											
Chan <i>et al.</i>	2011	Indonésia	185	177	<15	Crianças saudáveis pareadas por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	6pb – /6pb – 6pb – /6pb + 6pb + /6pb +	1,00 (referência) 1,19 (0,77 – 1,82) 0,79 (0,34 – 1,84)	NA ND ND
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	456	518	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	6pb + /6pb + 6pb – /6pb + 6pb – /6pb –	1,00 (referência) 1,1 (0,9 – 1,5) 1,0 (0,6 – 1,5)	NA ND ND
Lightfoot <i>et al.</i>	2015	Reino Unido	855	762	<15	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do genótipo homocigoto para a deleção aumentou o risco para LLA	6pb + /6pb + 6pb – /6pb + 6pb – /6pb – 6pb – /6pb – ou 6pb – /6pb +	1,00 (referência) 0,90 (0,73 – 1,10) 1,46 (1,02 – 2,08) 0,98 (0,81 – 1,19)	NA ND ND ND
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de malaios)	2010	Malásia e Cingapura	206	404	< 20	Sangue de cordão umbilical	Gênero	A presença do genótipo heterocigoto aumentou o risco para LLA	6pb – /6pb – 6pb – /6pb + 6pb + /6pb +	1,00 (referência) 1,456 (1,020 – 2,079) 1,703 (0,908 – 3,191)	NA 0,039 0,097
TYMS 28pb 2R / 3R											
Canalle <i>et al.</i>	2011	Brasil	126	300	<18	Indivíduos internados sem histórico de câncer, doenças imunológicas e genéticas.	Idade, gênero e etnia	A presença da variante 3R reduziu o risco para LLA	2R / 2R 2R / 3R 3R / 3R 2R / 3R + 3R / 3R	1,00 (referência) 0,61 (0,36–1,02) 0,60 (0,32–1,10) 0,60 (0,37–0,99)	NA 0,08 0,13 0,04
Chan <i>et al.</i>	2011	Indonésia	184	177	<15	Crianças saudáveis pareadas por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	3R / 3R 3R / 2R 2R / 2R	1,00 (referência) 1,02 (0,56–1,86) Genótipo ausente na amostra	NA ND NA

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%. 6pb –: deleção 6pb presente. 6pb +: deleção 6pb ausente. 2R: duas repetições. 3R: três repetições

Tabela 6: Efeito de polimorfismos no gene *TYMS* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação)

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
<i>de Jonge et al.</i>	2009	Holanda	244	491	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença da variante 2R reduziu o risco para LLA	3R / 3R 3R / 2R 2R / 2R 2R / 3R + 2R / 2R	1,00 (referência) 0,7 (0,5 – 1,0) 0,7 (0,4 – 1,0) 0,7 (0,5 – 1,0)	NA 0,04 0,08 0,03
<i>Gast et al.</i>	2007	Alemanha	457	541	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	2R / 2R 2R / 3R 3R / 3R	1,00 (referência) 1,0 (0,7 – 1,3) 1,1 (0,7 – 1,5)	NA ND ND
<i>Goričar et al.</i>	2015	Eslovênia	121	184	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	2R / 2R 2R / 3R + 2R / 2R	1,00 (referência) 0,66 (0,38 – 1,16)	NA 0,149
<i>Lightfoot et al.</i>	2015	Reino Unido	763	756	<15	Indivíduos sem histórico de câncer selecionados de registros populacionais	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	2R / 2R 2R / 3R 3R / 3R	1,00 (referência) 0,88 (0,68 – 1,13) 1,02 (0,77 – 1,34)	NA ND ND
<i>Petra et al.</i>	2007	Eslovênia	68	258	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	2R / 3R + 2R / 2R	ND	ND
<i>Rahimi et al.</i>	2012	Irã	71	109	<16	Pareados por idade e gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	3R / 3R 2R / 3R + 2R / 2R	1,00 (referência) 1,4 (0,76 – 2,6)	NA 0,27
<i>Silva et al.</i>	2013	Brasil	140	390	< 20	Pareados por idade	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	3R / 3R 3R / 2R 2R / 2R 2R / 3R + 2R / 2R	1,00 (referência) 0,96 (0,62 – 1,48) 0,91 (0,52 – 1,62) 0,95 (0,63 – 1,43)	NA 0,94 0,87 0,88
<i>Yeoh et al. (amostra de chineses)</i>	2010	Malásia e Cingapura	318	344	< 20	Sangue de cordão umbilical	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	3R / 3R 3R / 2R 2R / 2R	1,00 (referência) 0,89 (0,626 – 1,264) 0,56 (0,218 – 1,441)	NA 0,515 0,230

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%. 6pb –: deleção 6pb presente. 6pb +: deleção 6pb ausente. 2R: duas repetições. 3R: três repetições

4.2.5. Polimorfismos no gene *SHMT1*

O gene *SHMT1*, localizado no cromossomo 17 (17p11.2), codifica a forma citosólica da enzima serina-metiltransferase, que catalisa a conversão de serina e THF a glicina e 5,10-metileno-THF. Esta reação é fundamental para as reações de síntese de metionina, timidilato e purinas, implicando tanto na produção de DNA quanto em sua metilação (WANG *et al.*, 2015).

O polimorfismo de nucleotídeo único *SHMT1* C1420T (rs1979277) acarreta troca de um resíduo de leucina por um de fenilalanina no códon 474 da proteína. Esta alteração reduz a função enzimática de *SHMT1*, e assim, a disponibilidade de 5,10 metileno-THF, o que propicia a hipometilação do DNA e a quebra da dupla fita por inserção de uracila (WANG *et al.*, 2015).

Entre os estudos incluídos nesta revisão, cinco investigaram o efeito desta variante sobre o risco para LLA pediátrica, sendo quatro provenientes da Europa e um da Ásia. Nenhum dos estudos encontrou associação significativa de *SHMT1* C1420T, individualmente, com risco para LLA (Tabela 7). Porém, De Jonge e cols. (2009) descreveram que indivíduos que apresentam concomitantemente os alelos variantes *SHMT1* 1420-T e *TYMS* 28pb3R apresentam menor risco para a doença. É possível que haja um mecanismo de compensação quando a disponibilidade de folato é prejudicada por mais de uma mutação.

Tabela 7: Efeito de polimorfismos no gene *SHMT1* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
SHMT1 C1420T											
Referência: CC											
<i>de Jonge et al.</i>	2009	Holanda	244	497	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,7 (0,5 – 1,0) 1,0 (0,6 – 1,6) 0,8 (0,6 – 1,0)	0,05 0,88 0,09
<i>Gast et al.</i>	2007	Alemanha	453	541	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT	0,9 (0,7 – 1,1) 1,3 (0,9 – 2,1)	ND ND
<i>Lautner-Csorba et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND
<i>Lightfoot et al.</i>	2015	Reino Unido	818	761	<15	Indivíduos sem histórico de câncer selecionados de registros populacionais	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,88 (0,71 – 1,09) 0,92 (0,67 – 1,27) 0,89 (0,73 – 1,09)	ND ND ND
<i>Yang et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,03 (0,60 – 1,76) 1,60 (0,10 – 25,69) 1,09 (0,60 – 1,78)	0,889 0,739 0,851

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

4.2.6. Polimorfismos no gene *MTR*

O gene *MTR*, localizado no cromossomo 1 (1q43), transcreve a enzima Metionina Sintase (MS), responsável pela conversão de homocisteína a metionina utilizando cobalamina como cofator. Esta reação é crucial para o sistema de metilação, já que a metionina é precursora da SAMe, que por sua vez, transfere o grupamento metil para outras substâncias, a exemplo do DNA, convertendo-se a S-adenosil-homocisteína (COŞAR *et al.*, 2014).

O polimorfismo *MTR* A2756G (rs1805087) é a alteração mais estudada para este gene, e acarreta substituição de um resíduo de aspartato por um de glicina no sítio de ligação da enzima com a cobalamina. Seu papel biológico permanece incerto, uma vez que a variação é descrita tanto como ativadora quanto como inibidora da enzima (CARMONA, 2015).

Nesta revisão, foram incluídos oito estudos que investigaram o papel deste polimorfismo na modulação do risco para LLA pediátrica. Destes, cinco foram realizados na Europa, dois na Ásia e um na África (Tabela 8). Não houve associação significativa entre a presença do polimorfismo e o desfecho em sete (87%) estudos, enquanto que um (13%) descreveu aumento do risco relacionado à presença da variante (Figura 14).

Polimorfismo *MTR* A2756G

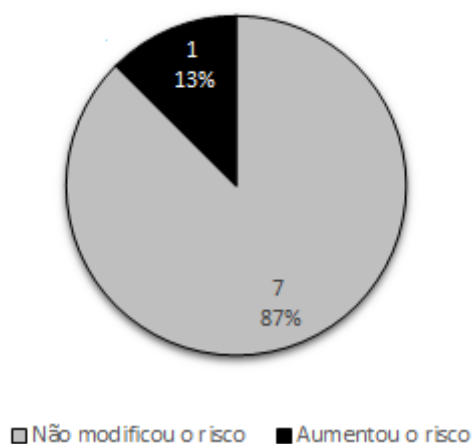


Figura 14: Efeito do polimorfismo *MTR* A2756G sobre o risco para LLA pediátrica.

Apenas Lightfoot e cols. (2015) observaram associação direta entre a ocorrência dos genótipos 2756-AG e 2756-GG e o risco para LLA pediátrica. O efeito foi maior quanto maior o número de cópias do alelo G (OR = 1,24 para AG; e OR = 1,88 para GG). Os autores afirmam que um possível mecanismo capaz de explicar o achado é o aumento da geração de metionina, e por consequência, de S_{AM}e, elevando o fluxo de transferência de radicais metil, o que ocasiona hipermetilação da região promotora de genes supressores de tumor.

O estudo realizado por Lightfoot e cols. (2015) identificou que este polimorfismo pode influenciar diferentemente os diversos tipos de LLA. O risco para LLA-B aumentou com a presença do polimorfismo (OR = 1,33 e IC = 1,07 – 1,65), enquanto que a LLA-T não teve o risco modificado pela variante. Quanto aos subtipos moleculares, o mais influenciado pela ocorrência do polimorfismo foi a LLA com rearranjo de *MLL* (OR = 2,9 e 95%IC = 1,36 – 6,17), seguida pela hiperdiploidia (OR = 1,34 (1,01 – 1,76)). O risco para LLA com *ETV6/RUNX1* não foi alterado pelo polimorfismo.

Embora um estudo com grande número amostral tenha demonstrado aumento do risco para LLA pediátrica entre portadores deste polimorfismo, a maior parte dos trabalhos já publicados aponta para a ausência de relação entre esta variante e o risco para LLA.

Tabela 8: Efeito de polimorfismos no gene *MTR* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTR A2756G											
Referência: AA											
<i>de Jonge et al.</i>	2009	Holanda	245	489	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG AG + GG	1,1 (0,8 – 1,6) 1,6 (0,7 – 3,8) 1,2 (0,8 – 1,6)	0,47 0,32 0,35
<i>Gast et al.</i>	2007	Alemanha	446	547	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG	1.4 (1.0–1.8) 0.8 (0.4–1.7)	ND ND
<i>Kamel et al.</i>	2007	Egito	88	311	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA de células B precursoras.	AG GG AG + GG	1,016 (0,905 – 1,141) 0,939 (0,756 – 1,166) 1,006 (0,902 – 1,122)	0,793 0,772 0,94
<i>Lautner-Csorba et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG + GG	ND	ND
<i>Lightfoot et al.</i>	2015	Reino Unido	870	759	<15	Indivíduos sem histórico de câncer selecionados de registros populacionais	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AG GG AG + GG	1,24 (1,00 - 1,53) 1,88 (1,16 - 3,07) 1,31 (1,07 - 1,60)	0,05 0,03 0,01
<i>Nikbakht et al.</i>	2011	Índia	125	100	<15	Pareados por idade e gênero	Idade e gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG AG + GG	0,99 (0,54 – 1,80) 0,78 (0,23 – 2,66) 0,95 (0,54 – 1,68)	0,92 0,87 0,96
<i>Petra et al.</i>	2007	Eslovênia	68	258	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG + GG	ND	ND
<i>Rahimi et al.</i>	2012	Irã	73	128	<16	Pareados por idade e gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG + GG	1,05 (0,58 – 1,87)	0,88

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

4.2.7. Polimorfismos no gene *MTHFD1*

O gene *MTHFD1*, localizado no cromossomo 14 (14q24), codifica a enzima Metilenotetrahidrofolato Desidrogenase (NADP+ dependente), que catalisa três reações distintas consecutivas no metabolismo dos folatos: converte (1) THF a 10-formil-THF, substrato para a síntese de purinas, (2) 10-formil-THF em 5,10-metenil-THF, e (3) 5,10-metenil-THF em 5,10-metileno-THF, fundamental para a síntese de pirimidinas e para a conversão de homocisteína a metionina (GIUSTI, 2012). O polimorfismo mais estudado desse gene é o *MTHFD1* G1958A (rs2236225), que resulta na troca de um resíduo do aminoácido arginina por um de glutamato na posição 653 da proteína. É provável que este polimorfismo reduza a produção de 10-formil-THF e 5,10-metileno-THF, prejudicando a síntese de metionina, e por consequência, de SAME, causando hipometilação do DNA, propiciando a ativação de oncogenes (GIUSTI, 2012).

Foram incluídos nesta revisão quatro estudos que investigaram o papel de polimorfismos no gene *MTHFD1* sobre o risco para LLA pediátrica. Destes, dois foram realizados na Europa e outros dois, na Ásia (Tabela 9). Nenhum dos estudos mostrou associação significativa entre o polimorfismo *MTHFD1* G1958A e risco para LLA.

O polimorfismo mais estudado nesse gene é o *MTHFD1* G1958A, que resulta na troca do aminoácido arginina por glutamato na posição 653 da proteína. É provável que este polimorfismo reduza a produção de 10-formil-tetrahidrofolato e 5,10-metilenotetrahidrofolato, prejudicando a síntese de metionina, e por consequência, de SAME, causando hipometilação do DNA, propiciando a ativação de oncogenes (GIUSTI, 2012).

Todos os trabalhos incluídos que estudaram o gene *MTHFD1* investigaram o papel do polimorfismo *MTHFD1* G1958A na modulação do risco para LLA pediátrica, sendo que nenhum deles encontrou associação estatisticamente significante entre as variáveis. Poucos estudos relacionaram este polimorfismo com o risco para LLA. Embora falem evidências para que haja uma conclusão concreta, a presença desta variante individualmente parece não estar associada ao risco para LLA.

O polimorfismo *MTHFD1* G401A (rs1950902) resulta em troca de um resíduo de arginina por lisina no domínio catalítico da enzima, podendo alterar sua função, embora não seja conhecida sua real atividade biológica (CUI *et al.*, 2014).

Estudos realizados por Gast e cols. (2007) e Lautner-Csorba e cols. (2013), ambos europeus, investigaram o papel deste polimorfismo na modificação do risco para LLA pediátrica. Ambos encontraram ausência de relação entre a variante e a doença. A pequena quantidade de estudos que abordou este polimorfismo, bem como a inexistência de pesquisas a respeito do tema em populações não europeias inviabiliza uma conclusão definitiva a respeito da função deste na patogênese da LLA.

Tabela 9: Efeito de polimorfismos no gene *MTHFD1* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTHFD1 G1958A											
Referência: GG											
Chan <i>et al.</i>	2011	Indonésia	184	177	<15	Crianças saudáveis pareadas por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA AA	0,70 (0,43-1,12) 0,77 (0,29-2,05)	ND ND
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	455	548	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA AA	1,0 (0,7 – 1,5) 1,1 (0,8 – 1,5)	ND ND
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA + AA	ND	ND
Yang <i>et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA AA GA + AA	0,75 (0,53 – 1,06) 1,07 (0,49 – 2,34) 0,78 (0,56 – 1,09)	0,1 0,862 0,142
MTHFD1 G401A											
Referência: GG											
Gast <i>et al.</i>	2007	Alemanha	458	551	<19	Adultos pareados por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA AA	1,2 (0,9 – 1,6) 0,7 (0,3 – 1,4)	ND ND
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA + AA	ND	ND

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

4.2.8. Polimorfismos em outros genes

O gene *DHFR*, localizado no cromossomo 5 (5q14.1) transcreve a enzima Dihidrofolato Redutase, que é responsável pelas conversões de folato na forma de monoglutamato a dihidrofolato e deste para THF, intermediário na origem dos cofatores para a síntese de purinas, pirimidinas e metionina. O polimorfismo *DHFR* A317G (rs408626) e a deleção de 19 pares de bases no íntron 1 deste gene (rs70991108) são descritos como possíveis inibidores da transcrição gênica, e podem estar relacionados a patologias atreladas ao folato, como a espinha bífida ou a falha no tratamento com metotrexato (ASKARI *et al.*, 2010; JOHNSON *et al.*, 2004).

Ambos os polimorfismos foram estudados quanto à relação com o risco para LLA pediátrica por Yang e cols. (2011) em 231 crianças com LLA na China. As duas variantes apresentaram associação nula com a ocorrência da doença (Tabela 10).

O gene *NNMT*, situado no cromossomo 11 (11q23.1), codifica a enzima Nicotinamida N-metiltransferase, que catalisa a transferência do grupo metil do SAME para outras substâncias, formando S-adenosil-homocisteína. É a etapa final da maior parte das reações de metilação no metabolismo humano, incluindo a de DNA. O polimorfismo IVS – 151C>T (rs2852425) é uma variante capaz de influenciar fortemente os níveis de homocisteína plasmática, embora seus efeitos sobre a função da proteína tenham sido pouco estudados até o momento (DE JONGE *et al.*, 2009).

O efeito desta alteração sobre o risco para LLA foi investigado por de Jonge e cols. (2009) em 245 crianças com LLA na Holanda. O genótipo variante TT aumentou significativamente o risco para a doença (OR = 2,2 e IC = 1,1–4,6), enquanto que o genótipo heterozigoto não foi associado com risco para LLA quando comparado com o homozigoto selvagem (Tabela 11).

O gene *FPGS*, localizado no cromossomo 9 (9q34.1), codifica a enzima Folipoliglutamato Sintase, responsável pela manutenção dos estoques de folato intracelular na forma de folipoliglutamato. A proteína com função reduzida diminui a disponibilidade de folato intracelular, prejudicando a síntese de DNA e o ciclo de transmetilação. Pouco se sabe sobre o papel biológico das variantes já descritas para este gene. (PIWKHAM *et al.*, 2015).

Entre os estudos incluídos nesta revisão, 2 investigaram polimorfismos no gene *FPGS* (Tabela 12). Apenas Piwkhram e cols. (2015) avaliaram os polimorfismos

rs7033913, g.732C>T, IVS 13+55C>T e rs7039798, sendo que, para os três primeiros, não foram observadas associações significativas com risco para LLA. O polimorfismo rs7039798 relacionou-se diretamente com o risco para LLA quando em heterozigose. Os homozigotos variantes apresentaram OR menor que um, porém, não significativa. Os polimorfismos rs1544105 e rs10106 foram avaliados por dois estudos. O trabalho realizado por Piwkham e cols (2015) encontrou associação direta entre a presença do alelo variante para ambos os polimorfismos e o risco para LLA. A relação foi observada apenas entre heterozigotos, enquanto que os genótipos homozigotos para ambas as variantes não foram relacionados com a ocorrência da doença. O estudo realizado por Lautner-Csorba e cols. (2013) apontaram para ausência de relação entre polimorfismos rs1544105 e rs10106 e o risco para LLA pediátrica.

As alterações nos genes *DHFR*, *NNMT* e *FPGS* foram pouco exploradas pela literatura quanto a suas relações com o risco para LLA pediátrica. A limitada quantidade de estudos envolvendo estes genes inviabiliza qualquer conclusão a respeito da relação entre a presença destes polimorfismos e a doença.

Tabela 10: Efeito de polimorfismos no gene *DHFR* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
DHFR A317C Referência: AA											
Yang <i>et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG AG + GG	0,80 (0,48 – 1,31) 0,61 (0,36 – 1,07) 0,71 (0,43 – 1,17)	0,373 0,081 0,171
DHFR 19pb ins Referência: del / del											
Yang <i>et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	del / ins Ins / ins del / ins + Ins / ins	1,21 (0,85 – 1,74) 1,58 (0,94 – 2,68) 1,29 (0,91 – 1,81)	0,287 0,085 0,149

95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Tabela 11: Efeito de polimorfismos no gene *NNMT* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
NNMT C151T Referência: CC											
de Jonge <i>et al.</i>	2009	Holanda	245	489	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,2 (0,8 – 1,7) 2,2 (1,1 – 4,6) 1,3 (0,9 – 1,8)	0,4 0,04 0,15

ND: IC: intervalo de confiança de 95%.

Tabela 12: Efeito de polimorfismos no gene *FPGS* sobre o risco para LLA pediátrica.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
rs7039798											
Referência: AA											
Pivkham <i>et al.</i>	2015	Tailândia	98	95	< 15	Crianças sem histórico de câncer pareadas por gênero	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AG GG GG + AG	2,14 (1,16 – 3,94) 0,74 (0,25 - 2,15) 1,75 (0,99 – 3,10)	0,014 0,574 0,054
rs7033913											
Referência: AA											
Pivkham <i>et al.</i>	2015	Tailândia	98	95	< 15	Crianças sem histórico de câncer pareadas por gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AG GG GG + AG	0,86 (0,37 – 1,96) 0 (0) 0,8 (0,35 – 1,81)	0,01 0,604 0,038
rs1544105											
Referência: AA											
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GG + AG	ND	ND
Pivkham <i>et al.</i>	2015	Tailândia	98	95	< 15	Crianças sem histórico de câncer pareadas por gênero	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AG GG GG + AG	2,24 (1,22 – 4,12) 0,75 (0,26 – 2,20) 1,83 (1,03 – 3,24)	0,715 0,987 0,593

ND: não disponível. NA: não se aplica. 95% IC: intervalo de confiança de 95%

Tabela 12: Efeito de polimorfismos no gene *FPGS* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação)

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor		
g.732C>T													
Referência: CC													
Piwkhram <i>et al.</i>	2015	Tailândia	98	95	< 15	Crianças sem histórico de câncer pareadas por gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	TC	2,76 (0,84 – 9,14)	0,096		
									TT			Genótipo ausente na amostra	NA
									TC + TT			2,76 (0,84 – 9,14)	0,096
IVS 13+55C>T													
Referência: CC													
Piwkhram <i>et al.</i>	2015	Tailândia	98	95	< 15	Crianças sem histórico de câncer pareadas por gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	TC	0,51 (0,09 – 2,83)	0,437		
									TT			Genótipo ausente na amostra	NA
									TC + TT			0,51 (0,09 – 2,83)	0,437
rs10106													
Referência: CC													
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND		
Piwkhram <i>et al.</i>	2015	Tailândia	98	95	< 15	Crianças sem histórico de câncer pareadas por gênero	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	TC	1,99 (1,08 – 3,64)	0,026		
									TT			0,65 (0,23 – 1,89)	0,433
									TC + TT			1,61 (0,91 – 2,85)	0,099

ND: não disponível. NA: não se aplica. 95% IC: intervalo de confiança de 95%

4.2.9 Efeito gênero-dependente de polimorfismos em genes relacionados ao folato sobre o risco para LLA.

É provável que a suscetibilidade genética à LLA pediátrica seja modificada em função do gênero. Segundo Yeoh e cols.(2010), polimorfismos tendem a exercer efeitos mais pronunciados sobre o risco para LLA em meninos que em meninas. Os mecanismos que medeiam esta relação não está claro, mas pode haver um papel dos hormônios esteroides sexuais, já que o estradiol exerce efeito antiproliferativo em blastos humanos, quando comparado à testosterona (MOSSUZ *et al.*, 1998).

Cinco estudos asiáticos incluídos nesta revisão apresentaram resultados específicos para cada gênero. Cinco variantes genéticas em 4 genes foram investigadas ao todo. Os dados extraídos dos estudos estão apresentados na Tabela 13.

O polimorfismo *MTHFR* A1298C foi investigado quanto ao risco para LLA relacionado ao gênero por quatro estudos, sendo que um deles descreveu apenas os resultados para meninos. Em meninos, dois estudos mostraram que não houve associação significativa entre o polimorfismo e risco para LLA, um deles demonstrou associação direta, e outro apresentou associação de proteção para a doença. Já em meninas, um estudo demonstrou aumento do risco na presença do alelo variante, e em dois, não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis (Figura 15). Yeoh e cols. (2010) constataram que o polimorfismo *MTHFR* A1298C foi associado com aumento do risco para LLA tanto em meninas quanto em meninos chineses, porém, esta associação não foi verificada entre malaios de ambos os gêneros, verificando o importante papel da etnia sobre a suscetibilidade genética à doença. Nikbakht e cols. (2011), na Índia, não identificaram relação significativa em nenhum dos gêneros. Já Reddy & Jamil (2005) também na Índia, verificaram proteção para LLA em meninos portadores do alelo variante, porém, os resultados para meninas não foram descritos.

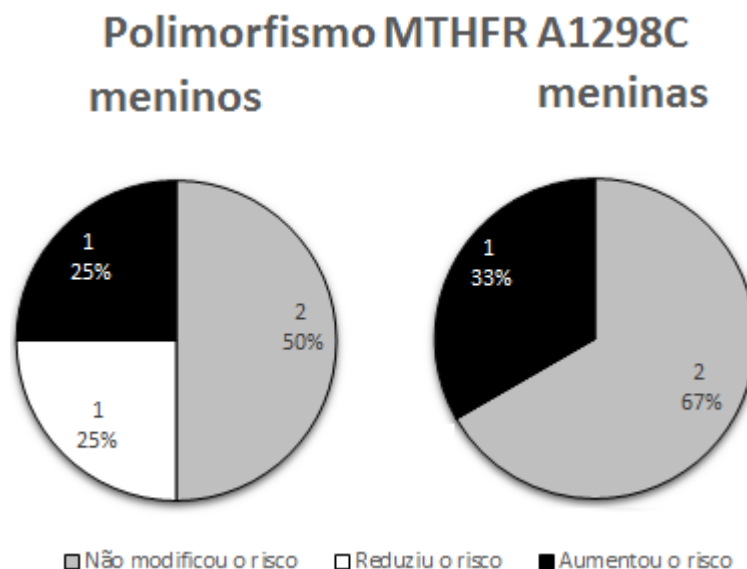


Figura 15: Efeito do polimorfismo *MTHFR* A128C sobre o risco para LLA pediátrica em meninos e meninas.

Com relação ao polimorfismo *MTHFR* C677T, Reddy & Jamil (2005) demonstraram relação inversa entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA em meninos, porém sem descrever o resultado para as meninas. Nikbakht e cols. (2011) descreveram ausência de associação entre o polimorfismo e o risco para LLA em ambos os gêneros.

O polimorfismo *SLC19A1* G80A foi estudado apenas por Yeoh e cols. (2010) em ambos os gêneros, sendo que, apenas em meninos, foi verificada associação de proteção para LLA entre portadores do alelo variante. Para o sexo feminino, não houve relação estatisticamente significativa entre as variáveis. Os mesmos autores também avaliaram o polimorfismo *TYMS* 28pb2R/3R, que não se mostrou associado com o risco em ambos os gêneros. Segundo Gra e cols. (2008), o genótipo GG, para *MTRR* A66G em meninas, é capaz de reduzir o risco para LLA, quando comparado aos genótipos AA+AG.

Não está claro o papel do gênero sobre a suscetibilidade genética à LLA pediátrica. Embora poucos estudos tenham publicado resultados separadamente para cada sexo, a maior parte da literatura aponta para a existência de diferentes comportamentos do risco para LLA pediátrica mediado por alterações genéticas entre meninos e meninas.

Tabela 13: Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para LLA pediátrica em meninos e meninas.

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTHFR A1298C em meninos											
Referência: AA											
Nikbakht <i>et al.</i>	2011	Índia	97	77	< 15	Pareados por idade	Idade	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1,02 (0,52 – 2,01)	0,92
									TT	0,79 (0,2 – 3,14)	0,94
									CT + TT	0,99 (0,51 – 1,92)	0,89
Reddy & Jamil	2005	Índia	87	89	< 11	Crianças sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,35 (0,17 – 0,69)	0,002
									TT	0,20 (0,02 – 1,37)	0,114
									CT + TT	0,34 (0,17 – 0,66)	0,001
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de chineses)	2010	Malásia e Cingapura	182	154	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AC	1,766 (1,116 – 2,794)	0,015
									CC	2,877 (0,988 – 8,373)	0,053
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de malaio)	2010	Malásia e Cingapura	136	190	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	0,922 (0,575 – 1,478)	0,735
									CC	1,048 (0,438 – 2,510)	0,916
MTHFR A1298C em meninas											
Referência: AA											
Nikbakht <i>et al.</i>	2011	Índia	28	23	< 15	Pareados por idade	Idade	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1,02 (0,61 – 1,67)	0,82
									TT	0,71 (0,23 – 2,21)	0,64
									CT + TT	0,92 (0,26 – 3,19)	0,89
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de chineses)	2010	Malásia e Cingapura	182	154	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AC	1,705 (1,016 – 2,863)	0,043
									CC	2,499 (1,078 – 5,795)	0,033
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de malaio)	2010	Malásia e Cingapura	122	142	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	1,108 (0,642–1,914)	0,71
									CC	0,767 (0,327–1,802)	0,54

ND: não disponível. NA: não se aplica. 95% IC: intervalo de confiança de 95%

Tabela 13: Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para LLA pediátrica em meninos e meninas (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTHFR C677T em meninos											
Referência: CC											
Nikbakht <i>et al.</i>	2011	Índia	97	77	< 15	Pareados por idade	Idade	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,79 (0,4 – 1,54) 0,66 (0,35 – 1,27) 0,80 (0,61 – 1,65)	0,58 0,24 0,14
Reddy & Jamil	2005	Índia	87	89	< 11	Crianças sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,27 (0,14 – 0,53) 0,00 (0,00 – 20,17) 0,27 (0,14 – 0,52)	0,00003 0,73 0,0004
MTHFR C677T em meninas											
Referência: CC											
Nikbakht <i>et al.</i>	2011	Índia	28	23	< 15	Pareados por idade	Idade	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,24 (0,72 – 2,19) 1,26 (0,54 – 2,93) 1,26 (0,74 – 2,15)	0,58 1,00 0,55
SLC19A1 G80A em meninos											
Referência: GC											
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de malaios)	2010	Malásia e Cingapura	123	142	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	GA AA	0,541 (0,309 – 0,948) 0,639 (0,315 – 1,295)	0,032 0,214
SLC19A1 G80A em meninas											
Referência: GC											
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de malaios)	2010	Malásia e Cingapura	87	177	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	GA AA	1,268 (0,651 – 2,469) 0,755 (0,341 – 1,674)	0,486 0,489

ND: não disponível. NA: não se aplica. 95% IC: intervalo de confiança de 95%

Tabela 13: Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para LLA pediátrica em meninos e meninas (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
TYMS 28pb 2R / 3R em meninos											
Referência: 3R / 3R											
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de chineses)	2010	Malásia e Cingapura	179	150	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	3R / 2R	0,623 (0,382 – 1,016)	0,058
									2R / 2R	0,930 (0,244 – 3,554)	0,916
TYMS 28pb 2R / 3R em meninas											
Referência: 3R / 3R											
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de chineses)	2010	Malásia e Cingapura	136	188	< 20	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	3R / 2R	1,275 (0,775 – 2,096)	0,339
									2R / 2R	0,318 (0,067 – 1,505)	0,148
MTRR A66G em meninas											
Referência: AA + AG											
Gra <i>et al.</i>	2008	Rússia	140	246	< 17	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	GG	0,45 (0,28 – 0,73)	0,001

ND: não disponível. NA: não se aplica. 95% IC: intervalo de confiança de 95%

5. CONCLUSÃO

A relação entre o metabolismo de folatos e a leucemogênese é complexa e ainda não completamente compreendida. Tanto a ingestão de folato, via alimentos ou suplementos, quanto as alterações em genes implicados no metabolismo desta substância vêm sendo estudadas como possíveis fatores associados ao risco para LLA pediátrica.

As evidências de que a suplementação materna pós gestacional possa reduzir o risco da ocorrência de LLA pediátrica são limitadas, já que poucos estudos analisaram esta relação até o presente momento, sendo que a maior parte encontrou associação nula. Há heterogeneidade entre os estudos quanto à presença ou não de suplementação com outros nutrientes e fatores de confusão avaliados. O fato de 50% dos estudos terem sido realizados na Oceania impossibilita a extrapolação dos resultados para outras populações. É necessária a realização de mais estudos que considerem fatores de confusão, como dosagens de folato suplementado, ingestão de álcool e ingestão habitual de folato.

Não há consenso quanto ao papel do polimorfismo *MTHFR* C677T na modificação do risco para a ocorrência LLA pediátrica. A maior parte dos estudos não demonstrou associação significativa entre as variáveis, embora associação inversa não estatisticamente significativa tenha sido descrita pela maioria dos trabalhos. Aumento do risco para LLA pediátrica entre portadores do polimorfismo também foi descrito por alguns estudos. Esta ausência de consenso pode ser atribuída ao número amostral limitado da maioria dos estudos caso-controle já realizados e à heterogeneidade quanto às características dos casos e dos controles utilizados. O efeito do polimorfismo *MTHFR* C677T sobre o risco para LLA pediátrica pode ser modulado por fatores como estado nutricional de folato, gênero, etnia e presença de outros polimorfismos. É necessária a realização de estudos com maior número amostral, que não incluam adultos no grupo controle e realizem correção para os possíveis fatores de confusão.

Os estudos não indicam que os polimorfismos *MTRR* A66G, *SHMT1* C1420T, *MTHFD1* G1958A e *MTR* A2756G sejam capazes de aumentar ou reduzir o risco para a ocorrência de LLA pediátrica independentemente de outros fatores.

Estudos que relacionaram o papel das variantes *MTHFR* A1298C, *TYMS* 1494 del6, *TYMS* 28pb2R/3R e *SLC19A1* G80A apresentaram resultados conflitantes, podendo estas variantes conferir aumento ou redução do risco para a ocorrência de LLA a depender de características da população estudada. Etnia, gênero, estado nutricional para folato e presença de outras variantes genéticas podem modificar o risco conferido por estes polimorfismos. Parece haver um papel importante da origem da população sobre o risco conferido pelo polimorfismo *SLC19A1* G80A, já que apenas estudos europeus observaram elevação do risco associada a este polimorfismo.

Os polimorfismos *MTHFD1* G401A, *MTRR* C524T, *MTRR* A1049G, *MTRR* C1783T, além de variantes nos genes *DHFR*, *NNMT* e *FPGS* foram pesquisadas por um número muito limitado de estudos quanto ao papel na modulação do risco para LLA pediátrica, impossibilitando qualquer conclusão a respeito do tema.

Este estudo tem como pontos positivos a realização de busca em quatro bases de dados sem restrição de ano de publicação. Esta revisão apresenta como limitações, a não realização de busca bibliográfica na base de dados EMBASE, e ausência de realização de análise da qualidade dos estudos.

A relação entre o metabolismo dos folatos e a leucemogênese é complexa e parece estar mais relacionada à interação entre genes e ambiente que a fatores individualmente associados ao risco. Estas interações são atualmente pouco compreendidas, sendo necessária a realização de mais estudos com objetivo de identificar relações entre polimorfismos em genes das vias metabólicas dos folatos e gênero, etnia, ingestão, suplementação e níveis séricos de folatos, ou presença de outras variantes genéticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIGA, S. M. N. S. *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and risk of acute lymphoblastic leukemia in children. **Indian Journal of Cancer**. v. 47. p. 40-45. 2010.

AJROUCHE, R. *et al.* Maternal reproductive history, fertility treatments and folic acid supplementation in the risk of childhood acute leukemia: the ESTELLE **Study**. **Cancer Causes Control**. v. 25 p. 1283–1293. 2014.

AKHAVAN-NAKI, H.; Samadani A. A. DNA methylation and cancer development: molecular mechanism. **Cell Biochem Biophys**.v. 67 p. 501-13. 2013

ALCASABAS, P. *et al.* 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphisms and the Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in Filipino Children. **Pediatr Blood Cancer**. V.51. p. 178–182. 2008.

AMIGOU, A. *et al.* Folic acid supplementation, MTHFR and MTRR polymorphisms, and the risk of childhood leukemia: the ESCALE study (SFCE). **Cancer Causes Control**. v. 23 p. 1265-1277. 2012.

AMITAY, E. L. *et al.* Breastfeeding and Childhood Leukemia Incidence: A Meta-analysis and Systematic Review. **JAMA Pediatr**. v. 169.2015.

ASKARI, S. *et al.* ihydrofolate Reductase Gene Variations in Susceptibility to Disease and Treatment Outcomes. **Current Genomics**. v.11 n. 8 p. 578-583. 2010.

ATASHRAZM, F. *et al.* Polymorphisms of the Methylene Tetrahydrofolate Reductase and Susceptibility to Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. **Labmedicine** v. 42. p. 275-279. 2011.

AZHAR, M.R. *et al.* Lack of Association Between MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in the Kurdish Population from Western Iran. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**. v. 16. p.198-202. 2012.

BAGGOTT, J.E; TAMURA T. Folate-Dependent Purine Nucleotide Biosynthesis in Humans. **Adv Nutr**. v. 6 p. 564-71. 2015

BAILEY, D.H. *et al.* Paternal intake of folate and vitamins B6 and B12 before conception and risk of childhood acute lymphoblastic leucemia. **Cancer Causes Control**. v. 25 p. 1615–1625. 2014.

BAILEY, D.H. *et al.* Maternal dietary intake of folate and vitamins B6 and B12 during pregnancy and the risk of childhood acute lymphoblastic leucemia. **Nutrition and Cancer**. v. 64 p. 1122-1130. 2012.

BALTA, G. *et al.* Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 Genotypes in Childhood Acute Leukemia. **American Journal of Hematology**. v. 73. p. 154–160. 2003.

BATAR, B. *et al.* DNA repair gene XPD and XRCC1 polymorphisms and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Res**. v. 33, n. 6, p. 759-63, 2009.

BELSON, M; KINGSLEY, B; HOLMES, A. Risk Factors for Acute Leukemia in Children: A Review. **Environmental Health Perspectives**. v. 115, p. 138-145. 2007.

BRISSON, G.D.; ALVES, L.R.; POMBO-DE-OLIVEIRA, M.S. Genetic susceptibility in childhood acute leukaemias: a systematic review. **Ecancermedalscience**. v. 9. 2015

CANALLE, R. *et al.* Impact of thymidylate synthase promoter and DNA repair gene polymorphisms on susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia & Lymphoma**. v. 52. p. 1118–1126. 2011.

CARMONA, B. F. S. Caracterização do papel dos genes TYMS e MTR no desenvolvimento de Cancro Colo-Rectal. Tese. (Doutorado em ciências da vida). **Instituto de Ciências Médicas. Faculdade Nova de Lisboa**. 2015.

CHAN, J. Y. S. *et al.* Xenobiotic and folate pathway gene polymorphisms and risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia in Javanese children. **Hematol Oncol**. v. 29. p.116–123. 2011.

CHANG, J. S. *et al.* Parental Smoking and the Risk of Childhood Leukemia. **American Journal of Epidemiology**, v.163 p. 1091-1100. 2006.

CHATZIDAKIS, K. *et al.* Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism: Association With Risk for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia

and Response During the Initial Phase of Chemotherapy in Greek Patients. **Pediatr Blood Cancer**. v. 47. p.147–151. 2006.

CHOKKALINGAM, A. P. *et al.* Variation in xenobiotic transport and metabolism genes, household chemical exposures, and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Cancer Causes Control**. v. 23, n. 8, p. 1367-75, 2012.

COŞAR, A. *et al.* Folate and homocysteine metabolisms and their roles in the biochemical basis of neuropsychiatry. **Turkish Journal Of Medical Sciences**. v. 44 n. 1 p.1-9 . 2014.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. **Manole**, 3o.ed. 2009.

CRIDER, K.S. *et al.* Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. **Adv Nutr**. v.3 p.21-38. 2012.

CUI, Y.; JING, Y.; SUN, Z. Lack of association between MTHFD1 G401A polymorphism and ovarian cancer susceptibility. **Tumour biology**. v.35 p. 3385-9. 2014.

DAMNJANOVIC, T. *et al.* Association Between the Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia in Serbian Children. **J Pediatr Hematol Oncol**. v. 32. p.148-150. 2010.

DE JONGE, R. *et al.* Polymorphisms in folate-related genes and risk of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Blood**. v. 113. p.2284-2289. 2009.

DOCKERTY, D.J. *et al.* Vitamin and mineral supplements in pregnancy and the risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia: a case-control study. **BMC Public Health**. v. 7. 2007.

DUFFICY, L. *et al.* G80A reduced folate carrier SNP influences the absorption and cellular translocation of dietary folate and its association with blood pressure in an elderly population. **Life Sci**. v.1 p. 957-66. 2006.

EDEN, T. Aetiology of childhood leukaemia. **Cancer Treatment Reviews**. v. 36 p. 286-297. 2010

EMERENCIANO, M *et al.* ARID5B polymorphism confers an increased risk to acquire specific MLL rearrangements in early childhood leukemia. **BMC Cancer**. v. 14 p. 127. 2014.

FENECH, M. Folate (vitamin B9) and vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity. **Mutat Res**. v. 733 p. 21-33. 2012.

FERREIRA, J. D. Maternal Alcohol Consumption during Pregnancy and Early Age Leukemia Risk in Brazil. **Biomed Res Int**. 2015.

FONG, C. *et al.* Association of MTHFR, MTR, and MTRR polymorphisms with Parkinson's disease among ethnic Chinese in Taiwan. **Clinica Chimica Acta**. v. 412 n. 3 p. 332–338. 2011.

FRANCO, R. F. *et al.* The methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism decreases the risk of childhood acute lymphocytic leukaemia. **British Journal of Haematology**. v. 115, p. 616-618. 2001.

FRENCH, A. E. *et al.* Folic acid food fortification is associated with a decline in neuroblastoma. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. v. 74, n. 3, p. 288-294. 2003.

FURUTA, E. Metabolic genes in cancer: their roles in tumor progression and clinical implications. **Biochim Biophys Acta**.v.1805 p. 141–152. 2010.

GAST, A. *et al.* Folate metabolic gene polymorphisms and childhood acute lymphoblastic leukemia: a case–control study. **Leukemia**. v. 21. p. 320–325. 2007.

GAUGHAN, D. J. *et al.* The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. **Atherosclerosis**. v. 157 P. 451–456. 2001.

GIUSTI, K.C.S. Associação entre polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo de folato (RFC1, GCP2, MTHFR e MTHFD1) e alterações nas concentrações de folato, cobalamina e homocisteína em mulheres com história de abortos espontâneos recorrentes. Diss. **Universidade de São Paulo**. 2012.

GORIČAR, K. *et al.* The association of folate pathway and DNA repair polymorphisms with susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. **Gene**. v, 562. p. 203–209. 2015.

GRA, O. A. *et al.* Genetic Polymorphism of *GST NAT2*, and *MTRR* and Susceptibility to Childhood Acute Leukemia. **Molecular Biology**. v. 42. p. 187–197. 2008.

GREAVES, M. In utero origins of childhood leukaemia. **Early Human Development**. v. 81, p. 123-129, 2005.

GREAVES, M. Childhood leukaemia. **BMJ**. v. 324, p. 283–287. 2002.

GREAVES, M. F.; WIEMELS, J. Origins of Chromosome Translocations in Childhood Leukaemia. **Nature Reviews**. v. 3, p. 1-11. 2003.

GREAVES, M. Pre-natal origins of childhood leukemia. **Rev Clin Exp Hematol**, v.7, n.3, p. 233-45. 2003.

GRUPP, M. S. G. Pediatric Cancer Rates After Universal Folic Acid Flour Fortification In Ontario. **The Journal of Clinical Pharmacology**. v. 51, p. 60–65. 2011.

HARRISON, C. J. The genetics of childhood acute lymphoblastic leukaemia. **Baillière's Clinical Haematology**. v. 13, n. 3, p. 427-439. 2000.

HOFF, P. M. G. *et al.* Tratado de Oncologia. **Atheneu**. 2013.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). Dietary reference intakes (DRIs) Recommended intakes for individuals. **Food and Nutrition Board National Academic**, 2004.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Câncer na criança e no adolescente no Brasil, **Ministério da Saúde**, 2008.

JOHNSON, W. G. *et al.* New 19 bp deletion polymorphism in intron-1 of dihydrofolate reductase (DHFR): a risk factor for spina bifida acting in mothers during pregnancy? **Am J Med Genet** v. 124 p. 339–345. 2004.

KAMEL, A. M. *et al.* Synergistic Effect of Methyltetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and A1298C Polymorphism as Risk Modifiers of Pediatric Acute

Lymphoblastic Leukemia. **Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst.** v. 19. p. 96-105. 2007.

KARATHANASIS, N. V. *et al.* The Role of the Methylenetetrahydrofolate Reductase 677 and 1298 Polymorphisms in Cretan Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers.** v. 15. p. 5-10. 2011.

KARATHANASIS, N. V. *et al.* The Effect of RFC G80A Polymorphism in Cretan children with acute lymphoblastic leukemia and its interaction with MTHFR C677T and A1298C polymorphisms. **Jnl. Lab. Hem.** v. 36. p. 425–430. 2014.

KEALEY, C. *et al.* A common insertion/deletion polymorphism of the thymidylate synthase (TYMS) gene is a determinant of red blood cell folate and homocysteine concentrations. **Hum Genet.** v. 116 n. 5 p. 347-53. 2005.

KIM, N. K. *et al.* Association of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism in Korean Patients with Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Anticancer Research** v. 26. p. 2879 - 2882. 2000.

KIM, Y. I. Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms, Folate, and Cancer Risk: a Paradigm of Gene-Nutrient Interactions in Carcinogenesis. **Nutrition reviews.** v. 58 p. 205-209.

KRAJINOVIC, M *et al.* Role of MTHFR genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood.** v. 103 p. 252 – 257. 2004.

KREILE, M. *et al.* Lack of Association between Polymorphisms in Genes MTHFR and MDR1 with Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Asian Pac J Cancer Prev.** v. 15. p. 9707-9711. 2014.

LAUTNER-CSORBA, O. *et al.* Roles of Genetic Polymorphisms in the Folate Pathway in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Evaluated by Bayesian Relevance and Effect Size Analysis. **PLoS One.** v. 8. p. 1-13. 2013.

LAUTNER-CSORBA, O. *et al.* Candidate gene association study in pediatric acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian network based Bayesian multilevel analysis of relevance. **BMC Med Genomics.** v. 5, p. 42, 2012.

LI, S. Y. Association between MTHFR C677T polymorphism and risk of acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis based on 51 case-control studies. **Med Sci Monit.** v. 2 n. 21 p. 740-8. 2015.

LI, X. *et al.* Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms with the susceptibility of childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL) in Chinese population. **European Journal of Medical Research.** v. 19. p.1-5. 2014.

LIGHTFOOT, T. J. *et al.* Genetic variation in the folate metabolic pathway and risk of childhood leukemia. **Blood.** v.115. p. 3923-3929. 2010.

LIGHTFOOT, T. J.; ROMAN, E. Causes of childhood leukaemia and lymphoma. **Toxicology and Applied Pharmacology.** v. 199, p. 104-117. 2004.

LIMA, A. *et al.* Role of Key TYMS Polymorphisms on Methotrexate Therapeutic Outcome in Portuguese Rheumatoid Arthritis Patients. **PLoS One.** v. 9 n.10. 2014.

LOGANAYAGAM, A. *et al.* Pharmacogenetic variants in the DPYD, TYMS, CDA and MTHFR genes are clinically significant predictors of fluoropyrimidine toxicity. **Br J Cancer.** v. 108 p. 2505–2515. 2013.

MAIA, A. T. Protracted postnatal natural histories in childhood leukemia. **Genes chromosomes & cancer.** v. 39 n. 4 p. 335 -340. 2004

MAIA, R. R. P.; WÜNSCH FILHO, V. Infection and childhood leukemia: review of evidence. **Rev Saude Publica.** v. 47 p. 1172–1185. 2013.

MCKINNEY, P. A. *et al.* Pre- and perinatal risk factors for childhood leukaemia and other malignancies: a Scottish case control study. **Br. J. Cancer.** v. 80 p. 1844–1851. 1999.

MENEGAUX, F. Maternal alcohol and coffee drinking, parental smoking and childhood leukaemia: a French population-based case-control study. **Paediatr Perinat Epidemiol.** v. 21 p. 293-9. 2007.

METAYER, C. *et al.* maternal supplementation with folic acid and other vitamins and risk of leukemia in offspring. **Epidemiology.** v. 25 p. 811–822. 2014.

METAYER, C. *et al.* Genetic variants in the folate pathway and risk of childhood acute lymphoblastic leucemia. **Cancer Causes Control**. v. 22 p. 1243–1258. 2011.

MILNE, E. *et al.* Parental Prenatal Smoking and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **American Journal of Epidemiology**, v. 175 p. 43-53. 2012

MILNE, E. *et al.* Maternal folate and other vitamin supplementation during pregnancy and risk of acute lymphoblastic leukemia in the offspring. **Int. J. Cancer**: v. 126 p. 2690-2699. 2010

MOHER, D. *et al.* Reprint--preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **Phys Ther**. v. 89 n. 9 p. 873-80. 2009.

MOMB, J.; APPLING, D. R. Mitochondrial one-carbon metabolism and neural tube defects. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol**. v.100 p. 576-83. 2014

MOSAAD, Y. M. *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C Polymorphism and Susceptibility to Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in a cohort of Egyptian Children. **Leukemia & Lymphoma**. p. 1-7. 2015.

MOULIK, N. R. *et al.* Glutathione-S-transferase polymorphism and acute lymphoblastic leukemia (ALL) in north Indian children: a case-control study and meta-analysis. **J Hum Genet**. v. 59 p. 529-35. 2014

MOULIK, N. R. *et al.* MTHFR gene polymorphism in acute lymphoblastic leukemia among North Indian children: a case–control study and meta-analysis updated from 2011. **Journal of Human Genetics**. v. 59. p. 397–404. 2014.

NIKBAKHT, M. *et al.* No association of folate-related and methionine synthesis genes variant in the development and progression of childhood ALL among North Indian population. **International Journal of Hematology Oncology and Stem Cell Research**. v. p. 20-29. 2011.

NUSSBAUM, R. L. *et al.* Thompson & Thompson Genética Médica. 7ª ed. **Elsevier**. 2008.

OLIVEIRA, E. *et al.* The MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms and Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Portugal. **J Pediatr Hematol Oncol**. v. 27. p. 425–429. 2005.

ORSI, L. *et al.* Parental smoking, maternal alcohol, coffee and tea consumption during pregnancy, and childhood acute leukemia: the ESTELLE study. **Cancer Causes & Control**. v. 26 p.1003-1017. 2015.

PEDROSA, F.; LINS, M. Leucemia linfóide aguda: uma doença curável. **Rev. bras. saúde matern. Infant.** v. 2 n. 1 p. 63-68. 2002.

PEI, J, S. *et al.* The Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotypes with the Risk of Childhood Leukemia in Taiwan. **PLoS One**. v. 10. p. 1-12. 2015.

PEREIRA, T. V. *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and risk of molecularly defined subtypes of childhood acute leukemia. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. v. 15 n. 10 p. 1956 – 1963. 2006.

PETRA. B. G. *et al.* Gene – gene interactions in the folate metabolic pathway influence the risk for acute lymphoblastic leukemia in children. **Leukemia & Lymphoma**. v.48. p. 786–792. 2007.

PIWKHAM, D. *et al.* Mutation Screening and Association Study of the Folylpolyglutamate Synthetase (FPGS) Gene with Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Asian Pac J Cancer Prev**. v.16. p.4727-4732. 2015.

RAHIMI, Z. *et al.* Thymidylate synthase and methionine synthase polymorphisms are not associated with susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia in Kurdish population from Western Iran. **Mol Biol Rep**. v. 39. p. 2195–2200. 2012.

REDDY, H; JAMIL, K. Polymorphisms in the MTHFR gene and their possible association with susceptibility to childhood acute lymphocytic leukemia in an Indian population. **Leukemia & Lymphoma**. v. 47. p. 1333–1339. 2006.

REGATEIRO, F. J. Manual de Genética Médica. 2ª ed. reimp. **Imprensa da Universidade de Coimbra**. 2007.

ROCHA, A. P. *et al.* Polimorfismos Genéticos: Implicações na Patogênese do Carcinoma Medular de Tireóide. **Brazilian archives of endocrinology and metabolism**. v. 51, n. 5 p. 723-730. 2007.

SANTOS, L.M. *et al.* Prevention of neural tube defects by the fortification of flour with folic acid: a population-based retrospective study in Brazil. **Bull World Health Organ.** v. 94 p. 22-9. 2016.

SAZAWAL, S. *et al.* MTHFR Gene Polymorphisms and the Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults and Children: A Case Control Study in India. **Indian J Hematol Blood Transfus.** v. 30. p. 219–225. 2014.

SCAZZONE, C. *et al.* Methionine Synthase Reductase (MTRR) A66G polymorphism is not related to plasma homocysteine concentration and the risk for vascular disease. **Experimental and Molecular Pathology.** v. P. 131–133. 2009.

SCHNAKENBERG, E. *et al.* Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and susceptibility to pediatric acute lymphoblastic leukemia in a German study population. **BMC Medical Genetics.** v. 6. p. 1-5. 2005.

SEEWALD, L. *et al.* Acute leukemias in children with Down syndrome. **Molecular Genetics and Metabolism.** V.107 p. 25-30. 2012.

SHAW, K.A. *et al.* Use of medication during pregnancy and risk of childhood leukemia (Canada). **Cancer Causes and Control.** v. 15 p. 931-937. 2004.

SHU, X. O. *et al.* Association of paternal diagnostic X-ray exposure with risk of infant leukemia. Investigators of the Childrens Cancer Group. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 3 p. 645-53. 1994.

SILVA, R. M. S. *et al.* Polymorphisms Involved in Folate Metabolism Pathways and the Risk of the Development of Childhood Acute Leukemia. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers.** v. 17. p. 147–152. 2013.

SKIBOLA, C. F. *et al.* Polymorphisms in the thymidylate synthase and serine hydroxymethyltransferase genes and risk of adult acute lymphocytic leukemia. **Blood.** v. 99 p. 3786-3791. 2002.

SMITH, M. T. *et al.* Molecular biomarkers for the study of childhood leukemia. **Toxicology and Applied Pharmacology.** v. 206, p. 237-245. 2005.

SMITH, M. A. *et al.* Leukemia. In: RIES L. A. G. *et al.* **Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975-1995.** Bethesda: National Cancer Institute, NIH Pub. No. 99-4649, p. 17-34. 1999.

SOOD, S. *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms: association with risk for pediatric acute lymphoblastic leukemia in north Indians. **Leukemia & Lymphoma**. v. 51. p. 928–932. 2010.

TASIAN, S.K. *et al.* Childhood acute lymphoblastic leukemia: Integrating genomics into therapy. **Cancer**. v. 121 p. 3577-90. 2015.

THOMPSON, R.J. *et al.* Maternal folate supplementation in pregnancy and protection against acute lymphoblastic leukaemia in childhood: a casecontrol study. **Lancet**. v. 358 p. 1935–40. 2001.

TONG, N. *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, serum methylenetetrahydrofolate reductase levels, and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. **Cancer Sci**. v. 101. p. 782–786. 2010.

WAKEFORD, R. Childhood leukaemia following medical diagnostic exposure to ionizing radiation in utero or after birth. **Radiat Prot Dosimetry**. v. 132 p. 166-74. 2008

WANG, S. *et al.* Functional variant in methionine synthase reductase decreases the risk of Down syndrome in China. **J. Obstet. Gynaecol. Res**. v. 39 n. 2 p. 511–515. 2013.

WANG, Y. *et al.* SHMT1 C1420T polymorphism contributes to the risk of non-Hodgkin lymphoma: evidence from 7309 patients. **Chin J Cancer**. v. 14 n 34. 2015

WIEMELS, J. L. Perspectives on the causes of childhood leukemia. **Chemico-Biological Interactions**. v. 196, p. 59-67, 2012.

WIEMELS, J. L. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and risk of molecularly defined subtypes of childhood acute leukemia. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 98 n. 7 p. 4004 – 4009. 2001.

WOJTUSZKIEWICZ, A. *et al.* Methotrexate resistance in relation to treatment outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. **J Hematol Oncol**. v.8. 2015.

YAN, J. *et al.* A Meta-Analysis of MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms and Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. **Pediatr Blood Cancer** v. 58 p. 513–518. 2012

YANG, L. Polymorphisms in folate-related genes: impact on risk of adult acute lymphoblastic leukemia rather than pediatric in Han Chinese. **Leukemia & Lymphoma**. v. 52. p. 1770–1776. 2011.

YEE, S. W. *et al.* SLC19A1 Pharmacogenomics Summary. **Pharmacogenet Genomics**. v. 20 p. 708–715. 2010.

YEOH, A. E. J. *et al.* Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia shows protection in Malay boys: Results from the Malaysia-Singapore ALL Study Group. **Leukemia Research**. v. 34. p. 276–283. 2010.

ZANROSSO, C. W. *et al.* The role of methylenetetrahydrofolate reductase in acute lymphoblastic leukemia in a Brazilian mixed population. . **Leukemia Research**. v. 30. p. 477–481. 2006.

ZHAO, R.; GOLDMAN, D. Folate and thiamine transporters mediated by facilitative carriers (SLC19A1-3 and SLC46A1) and folate receptors. **Molecular Aspects of Medicine**. v.34 p. 373–385. 2013.

ZIEGELBERGER, G. *et al.* Childhood leukemia e Risk factors and the need for an interdisciplinary research agenda. **Prog Biophys Mol Biol**. v.107 p.312-4. 2011

7. APÊNDICES

APÊNDICE A – Protocolo de revisão sistemática

PROTOCOLO

Alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica aguda pediátrica: uma revisão sistemática.

Alython Araujo Chung Filho

Orientadora: Dra Maria do Socorro Pombo-de-Oliveira

Equipe

Nome	Afiliação	Papel
Dra Maria do Socorro Pombo-de-Oliveira	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)	Orientadora
Gisele Dallapicola Brisson	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)	Coorientadora
Alython Araujo Chung Filho	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)	Autor

1. INTRODUÇÃO

As leucemias são as neoplasias pediátricas mais frequentes, correspondendo a 25–35% dos diagnósticos de cânceres nesta faixa etária, na maior parte das populações já estudadas no mundo. Entre estas, a leucemia linfoblástica aguda (LLA) corresponde a cerca de 75% dos casos. É uma doença de etiologia complexa e multifatorial, que envolve fatores genéticos e ambientais em que se inserem as alterações no metabolismo dos folatos (INCA, 2008; LIGHTFOOT & ROMAN, 2004).

Várias pesquisas foram elaboradas para desvendar a suscetibilidade genética à LLA conferida por polimorfismos em genes do ciclo dos folatos. Variantes nos genes *MTHFR*, *MTRR*, *SLC19A1*, *TYMS*, *MTR*, *NNMT* e *FPGS* já foram associadas ao risco para LLA (DE JONGE et al. 2009; PIWKHAM et al. 2015; LIGHTFOOT et al. 2010; GAST et al. 2007). Por outro lado, estudos epidemiológicos têm descrito a suplementação materna peri-gestacional como fator de proteção para a doença (METAYER et al. 2014; AMIGOU et al., 2012; THOMPSON et al. 2001).

O papel das alterações no metabolismo dos folatos na etiologia da LLA pediátrica não está completamente elucidado, o que nos desafia para a realização de uma revisão das evidências a respeito do tema e agregar resultados à formação de conhecimento.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Reunir as evidências científicas disponíveis na literatura a respeito das alterações no metabolismo dos folatos e o risco para leucemia linfoblástica aguda infantil, através de uma revisão sistemática.

2.2 Objetivos específicos

- Reunir evidências científicas sobre a suscetibilidade genética à LLA relacionada à presença de polimorfismos em genes implicados no metabolismo dos folatos.
- Verificar na literatura as evidências a respeito da influência da ingestão ou suplementação de folato sobre o risco para leucemia linfoblástica aguda infantil.

3. MÉTODOS

3.1- Critérios de elegibilidade

3.1.1 Critérios de inclusão:

- (1) estudo observacional, do tipo caso-controle;
- (2) estudo que relacione presença de polimorfismos em genes associados ao metabolismo dos folatos, ou ingestão de folatos via suplementos ou alimentos, com o risco para LLA pediátrica.

3.1.2 Critérios de exclusão:

- (1) não apresentar grupo controle;
- (2) incluir na coorte de casos, indivíduos com idade igual ou superior a 20 anos;
- (3) estar escrito em idioma diferente do português, inglês ou espanhol;
- (4) cartas ao editor;
- (5) estudos que relacionem a presença de alelos, mas não de genótipos sobre risco para LLA pediátrica;
- (6) estudos que incluam entre os casos crianças com tipos de leucemia diferentes de LLA.

3.2 Estratégias de busca:

3.2.1 Bases de dados eletrônicas

Medline (1966 – presente),
Lilacs (1982 – presente),
Scopus (1995 – presente)
Web of Science (1900 – presente)

3.2.2 Outras fontes de dados

Estudos de revisão encontrados tiveram as listas de referências inspecionadas.

3.2.3 Palavras-chave

- Suscetibilidade genética associada à presença de polimorfismos em genes do ciclo dos folatos: “leucemia”; “infância”; “gestação”; “folato”; “*MTHFR*”; “*TYMS*”; “*MTR*”; “*MTRR*”; “*DHFR*”; “*MTHFD*”; “*SHMT*”; “polimorfismo”.

- Ingestão de folato via suplementos ou alimentos: “leucemia”; “infância”; “gestação”; “folato”; “ingestão”; “suplementação”.

3.2.4 Idiomas

Inglês, português e inglês

3.2.5 Período de publicação dos estudos

Sem restrições

3.3 Coleta e análise dos dados

3.3.1 Coleta dos dados

Os estudos foram pré-selecionados através da leitura dos títulos e resumos realizada por dois revisores (AACF e GDB), independentemente. As discordâncias foram resolvidas através de consenso. Estudos pré-selecionados foram lidos na íntegra por ambos os avaliadores, e incluídos ou não, conforme os critérios de inclusão e exclusão.

3.3.2 Extração dos dados

Foi realizada através de preenchimento de um formulário, que incluiu: (1) local de realização do estudo; (2) ano de publicação; (3) número de casos; (4) número de controles; (5) idade dos casos; (6) critérios para pareamento dos controles; (7) fatores de confusão avaliados (8) resultados encontrados, incluindo OR, 95%IC e P-valor. Discordâncias entre os revisores foram resolvidas através de consenso entre ambos.

3.3.3 Interpretação dos dados

Resultados foram considerados estatisticamente significativos quando P-valor $\leq 0,05$ ou 95%IC não incluiu o valor 1. Para os estudos de suscetibilidade genética, considerou-se que o polimorfismo altera o risco para LLA quando a presença de uma ou mais cópias do alelo variante foi capaz de aumentar ou reduzir significativamente a OR.

3.3.4 Síntese dos dados

Os dados foram sintetizados em tabelas. Gráficos de pizza foram utilizados para demonstrar o número e a porcentagem de estudos que encontraram associação inversa, direta ou nula entre a exposição e o risco para LLA.

4. REFERÊNCIAS

AMIGOU, A. *et al.* Folic acid supplementation, MTHFR and MTRR polymorphisms, and the risk of childhood leukemia: the ESCALE study (SFCE). **Cancer Causes Control**. v. 23 p. 1265-1277. 2012.

DE JONGE, R. *et al.* Polymorphisms in folate-related genes and risk of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Blood**. v. 113. p.2284-2289. 2009.

GAST, A. *et al.* Folate metabolic gene polymorphisms and childhood acute lymphoblastic leukemia: a case-control study. **Leukemia**. v. 21. p. 320-325. 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Câncer na criança e no adolescente no Brasil, **Ministério da Saúde**, 2008.

LIGHTFOOT, T. J. *et al.* Genetic variation in the folate metabolic pathway and risk of childhood leukemia. **Blood**. v.115. p. 3923-3929. 2010.

LIGHTFOOT, T. J.; ROMAN, E. Causes of childhood leukaemia and lymphoma. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 199, p. 104-117. 2004.

METAYER, C. *et al.* maternal supplementation with folic acid and other vitamins and risk of leukemia in offspring. **Epidemiology**. v. 25 p. 811-822. 2014.

PIWKHAM, D. *et al.* Mutation Screening and Association Study of the Folylpolyglutamate Synthetase (FPGS) Gene with Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Asian Pac J Cancer Prev**. v.16. p.4727-4732. 2015.

THOMPSON, R.J. *et al.* Maternal folate supplementation in pregnancy and protection against acute lymphoblastic leukaemia in childhood: a case control study. **Lancet**. v. 358 p. 1935-40. 2001.

APÊNDICE B – Detalhamento das estratégias de busca

Estratégias de busca completas para cada base de dados para localização de estudos sobre a relação entre polimorfismos em genes ligados ao metabolismo dos folatos e o risco para LLA

Medline	((Pregnan*[tiab] OR pregnancy[mh]) OR (Child*[tiab] OR child[mh] OR pediat*[tiab] OR infant*[tiab])) AND ((Folic Acid[mh] OR Folic Acid[tiab] OR Folat*[tiab]) OR (MTHFR[tiab] OR TYMS[tiab] OR MTR[tiab] OR MTRR[tiab] OR methionine synthase[tiab] OR 5-Methyltetrahydrofolate-Homocysteine S-Methyltransferase[mh] OR Methylenetetrahydrofolate Reductase[mh] OR Thymidylate Synthase[mh] OR 5-Methyltetrahydrofolate-Homocysteine S-Methyltransferase[mh] OR DHFR[tiab] OR Tetrahydrofolate Dehydrogenase[mh] OR MTHFD[tiab] OR Methylenetetrahydrofolate Dehydrogenase[mh] OR SHMT[tiab] OR Glycine Hydroxymethyltransferase[mh])) AND (((("polymorphism, genetic"[MeSH Terms]) OR (polymorphism[tiab])) AND ((Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma[mh] OR acute lymphoblastic leukemia[tiab] OR Acute Lymphocytic Leukemia[tiab])))
Lilacs	tw:(tw:(("leukemia" OR leucemia) AND (niño* OR child* OR infant* OR criança OR pediatric* OR gravid* OR gestant* OR embaraz*)) AND (folat* OR folic* OR mthfr OR tyms OR mtr OR mtrr OR dhfr OR mthfd OR shmt)) AND (instance:"regional") AND (db:"LILACS")) AND (instance:"regional") AND (db:"LILACS"))
Web of Science	(leukemia) AND (pregnan* OR child* OR pediatric) AND (folat* OR folic acid OR mthfr OR tyms OR mtr OR mtrr OR dhfr OR mthfd OR shmt) AND (polymor*) NOT (treatment)
Scopus	(leukemia) AND (pregnan* OR child* OR pediatric) AND (folat* OR folic acid OR mthfr OR tyms OR mtr OR mtrr OR dhfr OR mthfd OR shmt) AND (polymor*)

Estratégias de busca completas para cada base de dados para localização de estudos sobre a relação entre ingestão de folatos via alimentos ou suplementos e o risco para LLA

Medline	(((((Pregnan*[tiab] OR pregnancy[mh])) OR (Child*[tiab] OR child[mh] OR pediat*[tiab] OR infant*[tiab]))) AND (Folic Acid[mh] OR Folic Acid[tiab] OR Folat*[tiab])) AND (Dietary Supplements[mh] OR Eating[mh] OR Supplement*[tiab] OR Intake[tiab] OR Ingest*[tiab] OR Eat*[tiab])) AND (Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma[mh] OR acute lymphoblastic leukemia[tiab] OR Acute Lymphocytic Leukemia[tiab])
Lilacs	tw:(tw:(("leukemia" OR leucemia) AND (niño* OR child* OR infant* OR criança OR pediatric* OR gravid* OR gestant* OR embaraz*)) AND (folat* OR folic*)) AND (instance:"regional") AND (db:"LILACS")) AND (instance:"regional") AND (db:"LILACS")
Web of Science	(leukemia) AND (pregnan* OR child* OR pediatric) AND (folat* OR folic acid) AND (Supplement* OR Intake OR Ingest* OR Eat*)
Scopus	(leukemia) AND (pregnan* OR child* OR pediatric) AND (folat* OR folic acid) AND (Supplement* OR Intake OR Ingest* OR Eat*)

APÊNDICE C – Tabela referente aos estudos relacionados aos polimorfismos no gene *MTHFR*

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
MTHFR C677T											
Referência: CC											
<i>Adiga et al.</i>	2010	Índia	86	99	< 16	Pareados por gênero, idade e grupo socioeconômico	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT	1,08 (0,48 – 2,45) Genótipo ausente na amostra	0,85 NA
<i>Alcasabas et al.</i>	2008	Filipinas	189	394	< 19	Sangue de cordão umbilical	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,38 (0,87 – 2,18) 1,11 (0,18 – 5,28) 1,04 (0,17 – 4,95)	ND ND ND
<i>Amigou et al.</i>	2012	França	434	427	< 15	Pareados por idade e gênero	Aleitamento materno, doenças congênitas	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,0 (0,8 – 1,4) 1,0 (0,6 – 1,6) 1,0 (0,8 – 1,8)	ND ND ND
<i>Atashrazm et al.</i>	2011	Irã	103	160	<17	Pareados por idade	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT	1,08 (0,58 – 1,95) 0,25 (0,05 – 1,24)	ND ND
<i>Azhar et al.</i>	2012	Irã	72	109	< 13	Pareados por gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	1,56 (0,85 – 2,84)	0,14
<i>Balta et al.</i>	2003	Turquia	142	185	< 18	Irmãos de crianças internadas por doenças benignas	Idade, gênero, contagem de leucócitos, grupos imunofenotípicos	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,87 (0,56 – 1,38) 1,74 (0,66 – 4,56) 0,95 (0,61 – 1,47)	ND ND ND
<i>Chan et al.</i>	2011	Indonésia	185	177	< 15	Crianças saudáveis pareadas por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT	0,73 (0,45 – 1,17) 0,44 (0,08 – 2,46)	ND ND

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação)

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Chatzidakis <i>et al.</i>	2006	Grécia	52	88	< 14	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT + TT	0,387 (0,193 – 0,776)	ND
Damjanovic <i>et al.</i>	2010	Sérvia	78	412	< 15	Pareados por gênero, idade e etnia	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,53 (0,32 – 0,89)	0,02
									TT	0,30 (0,12 – 0,81)	0,01
									CT + TT	0,48 (0,29 – 0,78)	0,002
de Jonge <i>et al.</i>	2009	Holanda	245	446	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,7 (0,5 – 1,0)	0,03
									TT	0,7 (0,4 – 1,2)	0,17
									CT + TT	0,7 (0,5 – 1,0)	0,02
Franco <i>et al.</i>	2001	Brasil	70	71	<16	Pareados por idade, gênero e etnia	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,5 (0,2 – 0,9)	ND
									TT	0,3 (0,09 – 0,8)	ND
									CT + TT	0,4 (0,2 – 0,8)	ND
Goričar <i>et al.</i>	2015	Eslovênia	121	184	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	0,72 (0,45 – 1,15)	0,168
Kamel <i>et al.</i>	2007	Egito	88	311	<18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA de células B precursoras.	CT	0,848 (0,576 – 1,246)	0,451
									TT	0,771 (0,384 – 1,548)	0,456
									CT + TT	0,837 (0,577 – 1,214)	0,398
Karathanasis <i>et al.</i>	2011	Grécia	35	48	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	0,5
Kreile <i>et al.</i>	2014	Letônia	68	102	< 19	Pareados por gênero e idade	Idade	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	0,94 (0,59 – 1,51)	0,81
Kim <i>et al.</i>	2006	Coreia do Sul	66	100	< 16	Pareados por idade	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	0,98 (0,46 – 2,06)	1,0
									TT	0,74 (0,28 – 1,93)	0,63
									CT + TT	0,91 (0,44 – 1,87)	0,854
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação)

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Li <i>et al.</i>	2014	China	98	93	< 12	Pareados por gênero e idade	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	0,93 (0,48 – 1,8)	0,82
									TT	1,8 (0,79 – 4,08)	0,16
									CT + TT	1,13 (0,61 – 2,11)	0,69
Lightfoot <i>et al.</i>	2015	Reino Unido	805	760	< 15	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1.03 (0.84-1.27)	ND
									TT	1.03 (0.74-1.43)	ND
									CT + TT	1.03 (0.85-1.26)	ND
Mosaad <i>et al.</i>	2015	Egito	100	100	< 19	Pareados por idade e gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1,13 (0,64 – 2,01)	0,66
									TT	2,81 (0,72 – 10,92)	0,12
Moulik <i>et al.</i>	2014	Índia	150	300	< 16	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,64 (0,41 – 1,01)	0,059
									TT	0,21 (0,04 – 0,94)	0,024
									CT + TT	0,58 (0,37 – 0,90)	0,018
Nikbakht <i>et al.</i>	2011	Índia	125	100	<15	Pareados por idade e gênero	Idade e gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	0,94 (0,52 – 1,69)	0,93
									TT	0,61 (0,21 – 1,77)	0,3
									CT + TT	0,88 (0,50 – 1,55)	0,72
Oliveira <i>et al.</i>	2005	Portugal	103	111	< 17	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	0,82 (0,47 – 1,44)	0,59
									TT	0,52 (0,16 – 1,67)	0,41
									CT + TT	0,78 (0,46 – 1,34)	0,45
Pei <i>et al.</i>	2015	China	266	266	<19	Pareados por idade	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,60 (0,42 – 0,87)	ND
									TT	0,48 (0,24 – 0,97)	ND
									CT + TT	0,58 (0,41 – 0,82)	ND
Petra <i>et al.</i>	2007	Eslovênia	68	258	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND
Reddy & Jamil	2005	Índia	135	142	< 11	Crianças sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT	0,49 (0,29 – 0,82)	0,005
									TT	0,46 (0,12 – 1,84)	0,329
									CT + TT	0,48 (0,29 – 0,80)	0,002
Sazawal <i>et al.</i>	2014	Índia	151	97	< 15	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT	1,094 (0,628 – 1,907)	0,749
									TT	1,340 (0,387 – 4,640)	0,644

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Schnakenberg <i>et al.</i>	2005	Alemanha, Austria e Suíça	443	379	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT + TT	ND	ND
Silva <i>et al.</i>	2013	Brasil	144	224	< 20	Pareados por idade	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,76 (1,13 – 2,74) 2,01 (0,87 – 4,64) 1,8 (1,76 – 2,74)	0,016 0,14 0,009
Sood <i>et al.</i>	2010	Índia	95	255	< 14	Adultos jovens de mesma etnia	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	CT TT CT + TT	1,73 (1,02 – 2,91) 0,73 (0,16 – 2,88) 1,6 (0,96 – 2,67)	0,02 0,62 0,05
Tong <i>et al.</i>	2009	China	361	508	< 19	Pareados por gênero e idade	Gênero, idade, condições de moradia e hábitos dos pais (tabagismo e etilismo)	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT TT	0,95 (0,69 – 1,30) 0,53 (0,32 – 0,88)	ND ND
Yang <i>et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,94 (0,61 – 1,43) 1,03 (0,66 – 1,61) 0,97 (0,66 – 1,44)	0,755 0,904 0,89
Yeoh <i>et al.</i> (amostra de chineses)	2010	Malásia e Cingapura	318	345	< 20	Sangue de cordão umbilical	Gênero	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	CT TT	0,63 (0,46 – 0,88) 0,65 (0,36 – 1,16)	0,006 0,143
Zanrosso <i>et al.</i>	2005	Brasil	165	198	< 17	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	CT TT CT + TT	0,68 (0,43 – 1,09) 0,65 (0,29 – 1,46) 0,68 (0,44 – 1,05)	ND ND ND
MTHFR A1298C											
Referência: AA											
Adiga <i>et al.</i>	2010	Índia	86	99	<16	Pareados por gênero, idade e grupo socioeconômico	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC	1,29 (0,65 – 2,89) 1,31 (0,53 – 3,26)	0,46 0,56

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Alcasabas <i>et al.</i>	2008	Filipinas	188	394	< 18	Sangue de cordão umbilical de indivíduos saudáveis	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AC	1,48 (1,0 – 2,19)	ND
									CC	1,86 (1,11 – 3,10)	ND
									AC + CC	1,57 (1,08 – 2,28)	ND
Amigou <i>et al.</i>	2012	França	434	441	< 15	Pareados por idade e gênero	Aleitamento materno, doenças congênitas	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	1,0 (0,7 – 1,3)	ND
									CC	1,1 (0,7 – 1,8)	ND
									AC + CC	1,0 (0,7 – 1,4)	ND
Atashrazm <i>et al.</i>	2011	Irã	103	160	< 17	Pareados por idade	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	1,07 (0,57 – 1,95)	ND
									CC	0,96 (0,37 – 2,45)	ND
Azhar <i>et al.</i>	2012	Irã	72	109	<13	Pareados por gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	1,15 (0,62 – 2,13)	0,65
Chan <i>et al.</i>	2011	Indonésia	185	177	<15	Crianças saudáveis pareadas por etnia	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	0,80 (0,52 – 1,24)	ND
									CC	0,54 (0,25 – 1,14)	ND
Damjanovic <i>et al.</i>	2010	Sérvia	78	412	< 15	Pareados por gênero, idade e etnia	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	ND	ND
de Jonge <i>et al.</i>	2009	Holanda	245	487	<18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	1,0 (0,7 – 1,4)	0,89
									CC	1,6 (1,0 – 2,7)	0,06
									AC + CC	1,1 (0,8 – 1,5)	0,57
Franco <i>et al.</i>	2001	Brasil	71	71	< 16	Pareados por idade, gênero e etnia	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	1,3 (0,7 – 7,6)	ND
									CC	2,8 (0,5 – 15,6)	ND
									AC + CC	1,3 (0,7 – 2,6)	ND
Goričar <i>et al.</i>	2015	Eslovênia	121	184	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	0,98 (0,62 – 1,55)	0,917
Kamel <i>et al.</i>	2007	Egito	88	311	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA de células B precursoras.	AC	0,382 (0,222 – 0,658)	0,001
									CC	0,904 (0,747 – 1,095)	0,428
									AC + CC	0,432 (0,263 – 0,707)	0,001

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Karathanasis <i>et al.</i>	2011	Grécia	35	48	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	ND	0,85
Kreile <i>et al.</i>	2014	Letônia	68	102	<19	Pareados por gênero e idade	Idade	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	0,76 (0,47 – 1,22)	0,25
Kim <i>et al.</i>	2006	Coreia do Sul	62	100	01 – 15	Pareados por idade	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AC CC AC + CC	2,22 (1,09 – 4,51) 1,01 (0,09 – 11,5) 2,11 (1,06 – 4,22)	0,03 1,00 0,049
Lautner-Csorba <i>et al.</i>	2013	Hungria	543	529	< 19	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	ND	ND
Li <i>et al.</i>	2014	China	98	93	< 12	Pareados por gênero e idade	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AC CC AC + CC	2,084 (1,131 – 3,841) 2,481 (0,219 – 28,104) 2,100 (1,149 – 3,837)	0,018 0,449 0,015
Lightfoot <i>et al.</i>	2015	Reino Unido	759	713	<15	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	AC CC AC + CC	0,79 (0,64 – 0,97) 0,81 (0,57 – 1,15) 0,79 (0,65 – 0,97)	ND ND ND
Mosaad <i>et al.</i>	2015	Egito	100	100	< 19	Pareados por idade e gênero	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC	0,95 (0,54 – 1,68) 0,66 (0,10 – 4,03)	0,88 0,65
Moulik <i>et al.</i>	2014	Índia	150	300	< 16	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo aumentou o risco para LLA	AC CC AC + CC	1,70 (1,11 – 2,60) 4,44 (2,19 – 8,99) 2,00 (1,34 – 3,01)	0,014 <0,0001 0,0007
Nikbakht <i>et al.</i>	2011	Índia	125	100	<15	Pareados por idade e gênero	Idade e gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC AC + CC	1,02 (0,56 – 1,85) 0,56 (0,18 – 1,68) 0,94 (0,53 – 1,66)	0,94 0,37 0,91
Oliveira <i>et al.</i>	2005	Portugal	103	111	< 17	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC AC + CC	1,81 (1,03 – 3,20) 1,50 (0,54 – 4,14) 1,76 (1,02 – 3,06)	0,06 0,60 0,06

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene *MTHFR* sobre o risco para LLA pediátrica (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
Pei <i>et al.</i>	2015	China	266	266	< 18	Pareados por idade	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	1,03 (0,71 – 1,49)	ND
									CC	1,22 (0,51 – 2,90)	ND
									AC + CC	1,05 (0,74 – 1,50)	ND
Petra <i>et al.</i>	2007	Eslovênia	68	258	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	ND	ND
Reddy & Jamil	2006	Índia	135	142	< 11	Crianças sem histórico de câncer	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	AC	0,52 (0,30 – 0,88)	0,014
									CC	0,52 (0,17 – 1,49)	0,266
									AC + CC	0,52 (0,31 – 0,87)	0,008
Sazawal <i>et al.</i>	2014	Índia	151	97	< 15	Adultos sem histórico de câncer	Não foram avaliados efeitos de possíveis fatores de confusão.	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC	0,891 (0,514 – 1,545) 1,389 (0,590 – 3,270)	0,683 0,451
Schnakenberg <i>et al.</i>	2005	Alemanha, Áustria e Suíça	443	379	< 18	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC + CC	ND	ND
Silva <i>et al.</i>	2013	Brasil	136	248	< 20	Pareados por idade	Nenhum	A presença do polimorfismo reduziu o risco para LLA	AC CC AC + CC	0,58 (0,36 – 0,92) 0,25 (0,13 – 0,49) 0,47 (0,30 – 0,71)	0,028 < 0,0001 0,0006
Sood <i>et al.</i>	2010	Índia	95	255	< 14	Adultos jovens de mesma etnia	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	0,7 (0,43 – 1,16)	0,13
									CC	1,02 (0,54 – 1,92)	0,93
									AC + CC	0,65 (0,38 – 1,14)	0,1
Tong <i>et al.</i>	2009	China	361	508	< 19	Pareados por gênero e idade	Gênero, idade, condições de moradia e hábitos dos pais (tabagismo e etilismo)	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC	0,83 (0,59 – 1,16) 0,71 (0,34 – 1,45)	ND ND
Yang <i>et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC	0,88 (0,60 – 1,27)	0,481
									CC	0,65 (0,17 – 2,56)	0,536
									AC + CC	0,86 (0,60 – 1,24)	0,421

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.

Efeito de polimorfismos no gene MTHFR sobre o risco para LLA pediátrica (continuação).

Estudo	Ano de publicação	Local de realização	Nº casos	Nº controles	Idade dos casos (anos)	Características dos controles	Fatores de confusão avaliados	Achados	Genótipo	Odds ratio (95%IC)	P-valor
<i>Yang et al.</i>	2011	China	231	367	< 16	Crianças e adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC AC + CC	0,88 (0,60 – 1,27) 0,65 (0,17 – 2,56) 0,86 (0,60 – 1,24)	0,481 0,536 0,421
<i>Yeoh et al.</i> (amostra de chineses)	2010	Malásia e Cingapura	318	344	< 20	Sangue de cordão umbilical	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC	1,28 (0,92 – 1,77) 1,62 (0,84 – 3,11)	0,145 0,150
<i>Yeoh et al.</i> (amostra de malaio)	2010	Malásia e Cingapura	208	323	< 20	Sangue de cordão umbilical	Gênero	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC	1,40 (0,96 – 2,04) 1,39 (0,781–2,47)	0,082 0,263
<i>Zanrosso et al.</i>	2005	Brasil	168	199	< 17	Adultos sem histórico de câncer	Nenhum	Não houve relação entre a presença do polimorfismo e o risco para LLA	AC CC AC + CC	1,30 (0,83 – 2,04) 1,23 (0,48 – 3,15) 1,29 (0,84 – 1,99)	ND ND ND

ND: não disponível. 95% IC: intervalo de confiança de 95%.