

Investigação do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* e sua associação com o câncer de mama em mulheres de Mato Grosso, Brasil

Investigation of the C3435T polymorphism in the MDR1 gene and its association with breast cancer in women of Mato Grosso, Brazil

Aguiar Farina¹, Naiana Fernandes Leotti², Danebe Fernandes de Araújo³, Sílvia Somavilla⁴, Bianca Borsatto Galera⁵

Descritores

Neoplasias da mama
Glicoproteína P
Polimorfismo genético

RESUMO

Objetivo: Investigar a frequência do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* e sua associação com câncer de mama (CM) em mulheres de MT. **Método:** O estudo tem desenho epidemiológico descritivo e observacional do tipo caso-controle. Analisou-se o genótipo do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* a partir de sangue periférico; foram comparadas 201 pacientes com 177 controles. As pacientes foram mulheres portadoras de CM, as controles foram mulheres não portadoras de CM comprovado por exame clínico e mamografia. Os dados foram coletados por meio de entrevista com as mulheres, coleta de sangue para genotipagem e coleta de dados de prontuários médicos das pacientes. O projeto teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. **Resultados:** O polimorfismo C3435T no gene *MDR1* teve distribuição semelhante entre as pacientes e as controles, sem diferença estatisticamente significativa entre as amostras. **Conclusões:** A frequência do polimorfismo C3435T do gene *MDR1* é semelhante à encontrada na literatura. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na frequência dos genótipos do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* entre as pacientes com CM e as controles. O polimorfismo também não apresentou associação com fatores prognósticos para o CM.

Keywords

Breast neoplasms
P-glycoprotein
Polymorphism, genetic

ABSTRACT

Objective: To investigate the frequency of the C3435T polymorphism in the *MDR1* gene and its association with breast cancer (BC) in women of MT. **Method:** The study is descriptive and observational epidemiological case-control design. We analyzed the genotype of the C3435T polymorphism in the *MDR1* gene in peripheral blood were compared in 201 patients with 177 controls. Patients were women with breast cancer, the controls were not women with BC confirmed by clinical examination and mammography. Data were collected through interviews with women, blood was collected for genotyping and data collection from medical records of patients. The project was approved by the Research Ethics Committee. **Results:** The C3435T polymorphism in the *MDR1* gene had similar distribution between patients and controls with no statistically significant difference between samples. **Conclusions:** The frequency of C3435T polymorphism of *MDR1* gene is similar to that found in the literature. We found no statistically significant difference in genotype frequency of C3435T polymorphism in the *MDR1* gene among patients with BC and controls. The polymorphism also showed no association with prognosis for BC factors.

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) – Cuiabá (MT), Brasil.

¹Mastologista; Professor do Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina da UFMT – Cuiabá (MT), Brasil.

²Bióloga; Professora convidada da Faculdade de Medicina da UFMT – Cuiabá (MT), Brasil.

³Bióloga; Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – São Paulo (SP), Brasil.

⁴Biomédica; Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da UFMT – Cuiabá (MT), Brasil.

⁵Bióloga; Professora da Faculdade de Medicina da UFMT; Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da UFMT – Cuiabá (MT), Brasil.

Endereço para correspondência: Aguiar Farina – Rua Santa Mônica, 75, casa 11 – Jardim Califórnia – CEP: 78070-355 – Cuiabá (MT), Brasil – E-mail: aguiarfarina@gmail.com

Conflito de interesses: nada a declarar.

Recebido em: 21/07/2014. Aceito em: 23/08/2014

Introdução

Câncer de mama (CM) é um assunto que vem ocupando destaque crescente na mídia no mundo todo; provavelmente por ser um tipo de neoplasia com aumento da incidência na maioria dos países e por ser a segunda causa de mortalidade por câncer na população feminina¹.

Teve ampla divulgação a publicação, pelo jornal norte-americano *The New York Times*, em maio de 2013, de que a atriz Angelina Jolie foi operada de mastectomia bilateral profilática devido ao fato de ter uma história familiar de CM e mutação do gene *BRCA1*, o que levou muitas mulheres a procurar aconselhamento médico para saberem sobre seus riscos de desenvolvimento da doença. Publicações surgiram em bases de dados e esse movimento foi chamado “efeito Angelina Jolie”²⁻⁶.

No caso da referida atriz, foi divulgado que ela apresentava histórico familiar positivo de CM em, pelo menos, três parentes de primeiro grau que apresentaram a doença antes de 50 anos de idade, o que configura alto risco de CM para a paciente; também foi divulgado que a atriz apresentava mutação do gene *BRCA1* e que tinha risco de 80% de desenvolver CM ao longo da vida.

Muitas pacientes procuraram e ainda buscam consulta médica com o intuito de realizar o mesmo procedimento para diminuir o risco de desenvolver a doença.

A pesquisa de mutação do gene *BRCA* oferece informação de risco para pequena parcela: entre 5 e 10% da população de risco para CM, ditos casos hereditários; para o restante, aproximadamente 90% dos casos de CM, ditos esporádicos, não existe indicador de risco genético⁷.

O câncer tem origem no mecanismo de controle genético da multiplicação celular e em fatores ambientais que influenciam esse mecanismo. A investigação do papel de outros genes é imprescindível para identificar susceptibilidade ao CM.

O gene *MDR1* codifica uma glicoproteína transmembrana denominada P-glicoproteína (P-gp), que atua em processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção de uma variedade de compostos e drogas, como os antineoplásicos. Há cerca de 50 polimorfismos descritos para esse gene, mas um dos mais importantes é o C3435T, em que há uma troca do alelo C pelo T nessa posição. Essa modificação interfere no funcionamento da P-gp que diminuiria a função de eliminação de carcinógenos do interior da célula, levaria a maior dano ao DNA e isso ao aumento de carcinogênese⁸. Há relatos de associação do polimorfismo com aumento do risco de CM.

Nesse contexto, o presente estudo sobre o polimorfismo C3435T no gene *MDR1* objetivou identificar a frequência do polimorfismo em mulheres de Mato Grosso e sua possível associação com o CM.

Métodos

Coletou-se o sangue periférico e realizou-se genotipagem do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* de 201 pacientes com CM e de 177 controles sem CM, em Cuiabá (MT).

O critério de inclusão para as pacientes foi ser portadora de CM, comprovado por estudo histopatológico; para as controles, o requisito foi comprovação, por exame físico e mamografia, de ausência de câncer.

Realizou-se amplificação por reação em cadeia de polimerase (PCR) e genotipagem com eletroforese em gel de poliacrilamida.

A análise estatística foi feita com o auxílio do *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) IBM statistics*, versão 20.

Resultados

A frequência do genótipo do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* das mulheres de Mato Grosso, considerando pacientes e controles, foi: 114 do genótipo CC (30,2%), 196 do CT (51,9%) e 68 do TT (18%), semelhante aos dados encontrados em outros estudos.

A frequência dos genótipos CC, CT e TT foi estatisticamente semelhante entre as pacientes e as controles ($\chi^2=0,7$; $p=0,7$) (Tabela 1).

A comparação entre o genótipo TT e CC também não mostrou associação ($\chi^2=1,96$; $p=0,16$).

A frequência dos alelos C e T não mostrou associação com o CM ($\chi^2=0,33$; $p=0,56$).

Neste estudo não houve associação estatisticamente significativa entre os genótipos CC, CT e TT e algumas variáveis utilizadas na prática clínica diária, tais como: tamanho do tumor ($p=0,3$), metástase em linfonodos axilares ($p=0,4$), grau histológico ($p=0,3$), estado dos receptores de estrogênio e progesterona ($p=0,8$), estado do *human epidermal growth factor receptor 2 (Her2)* ($p=0,4$), classificação molecular ($p=0,9$) e metástase ($p=0,6$) (Tabela 2).

Tabela 1. Distribuição da frequência do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* e sua associação com o câncer de mama em mulheres de Mato Grosso, Brasil

Genótipo	Pacientes	Controles	Total	χ^2	Valor p
CC	61	53	114	0,7	0,7
CT	101	95	196		
TT	39	29	68		
Total	201	177	378		
CT+TT	140	124	264	0,007	0,9
CC	61	53	114		
Total	201	177	378		

Tabela 2. Associação entre o genótipo do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* com fatores prognósticos para o câncer de mama em mulheres de Mato Grosso, Brasil

Parâmetros clínicos e histopatológicos	Genótipo			Valor p
	CC	CT	TT	
Média de idade no diagnóstico	51,10	51,18	53,54	0,6
Tamanho do tumor (mm)				
Até 20	15	39	12	0,3
21 a 50	35	43	18	
50 ou maior	11	19	9	
Metástase em linfonodo				
Positivo	34	62	29	0,4
Negativo	19	33	9	
Grau histológico				
1	19	23	12	0,3
2	28	52	16	
3	13	24	8	
Receptor hormonal E e/ou P				
Positivo	28	48	21	0,8
Negativo	30	48	18	
Her2				
Positivo	9	21	6	0,4
Negativo	48	71	32	
Classificação molecular				
Luminal a	15	18	10	0,9
Luminal b	13	23	8	
Luminal híbrido	8	13	6	
Grupo her	7	18	4	
Basal like	15	24	11	
Metástase				
Sim	1	4	1	0,6
Não	60	97	38	

Her2: *human epidermal growth factor receptor 2*; E: estrogênio; P: progesterona.

Discussão

O primeiro objetivo do estudo foi investigar o polimorfismo C3435T no gene *MDR1* de mulheres de Mato Grosso; para isso, analisou-se em conjunto, num só grupo, pacientes e controles. Analisar em conjunto teve por objetivo aumentar o número de participantes da amostra. Observou-se, no total (pacientes e controles), a frequência genotípica de 30% de CC, 52% de CT e 18% de TT, e frequência alélica de 56% para C e 44% para T. Em outro estudo, brasileiro, com 41 pacientes, realizado em São Paulo, com o mesmo polimorfismo, Rodrigues et al.⁹ encontraram frequência genotípica de 20% de CC, 39% de CT e 41% de TT, na Turquia, encontraram 20% de genótipo CC, 53% de CT e 27% de TT, distribuição dos genótipos parecida com o presente estudo. O mesmo estudo relata meta-análise em que a frequência do genótipo CC oscilou de 15 a 70%, o genótipo CT, de 26 a 53%, e o TT, de 1 a 47%; portanto, a amostra deste estudo encontrou distribuição genotípica semelhante à encontrada em outros estudos.

O segundo objetivo foi comparar a associação do genótipo do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* com o CM.

Turgut et al.¹¹, em 2007, publicaram estudo que comparou o polimorfismo C3435T no gene *MDR1* de 57 mulheres turcas com CM com 50 mulheres sem a doença; os autores encontraram aumento do genótipo TT nas pacientes ($\chi^2=8,66$; $p=0,013$), e com alelo T encontraram *odds ratio* (OR)=1,5 (intervalo de confiança de 95% – IC95% 1,09–1,96).

Em 2012, Wang et al.¹² publicaram meta-análise incluindo 5.196 pacientes com câncer e 6.827 controles em 34 estudos do tipo caso-controle avaliando associação entre o polimorfismo C3435T no gene *MDR1* e o câncer; os autores encontraram OR=1,66 e IC95% 1,24–2,21, comparando o genótipo TT com CC para o CM.

Sheng et al.¹³ publicaram meta-análise, em 2011, com 39 estudos do tipo caso-controle analisando o polimorfismo C3435T no gene *MDR1* e sua associação com o risco de câncer, incluindo 9.265 pacientes e 13.502 controles, e encontraram aumento no risco de CM de 1,42 (OR=1,42; IC95% 1,04–1,94; $p=0,018$), entre outros tipos de câncer.

Wang et al.¹⁴, em 2013, publicaram meta-análise com 10 estudos tipo caso-controle incluindo 5.282 pacientes e 7.703 controles e encontraram, comparando TT *versus* CC, OR=1,45; IC95% 1,14–1,30.

Tatari et al.¹⁵ publicaram estudo tipo caso-controle, em 2009, com mulheres iranianas, no qual compararam 106 pacientes com CM com 77 mulheres sem CM e relataram que não encontraram associação entre o polimorfismo C3435T do gene *MDR1* e o CM.

A maioria dos estudos publicados investigando associação do polimorfismo C3435T com o CM encontrou associação positiva, mas há estudos que não encontraram essa associação. Os estudos que encontraram associação não explicam claramente como ela ocorre.

O que levou a investigar a associação do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* foi a possibilidade de encontrar um indicador de risco para o CM que pudesse contribuir para identificar paciente com risco para CM e, conseqüentemente, maior monitoramento, diagnóstico mais precoce, com redução da mortalidade por essa doença.

Neste estudo não houve associação estatisticamente significativa entre os genótipos CC, CT e TT e alguns fatores prognósticos para o câncer de mama, tais como: tamanho do tumor ($p=0,6$), metástase em linfonodos axilares ($p=0,3$), grau histológico ($p=0,3$), estado dos receptores de estrogênio e progesterona ($p=0,8$), estado do Her2 ($p=0,4$), classificação molecular ($p=0,9$) e metástase ($p=0,6$).

No presente estudo, a classificação da etnia foi definida pela observação do investigador. Alguns estudos relatam que a associação do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* com o CM depende da etnia. Há relatos de associação desse polimorfismo com o CM em caucasianas e de não associação em asiáticas. O grupo deste estudo apresenta heterogeneidade quanto à etnia: predomina a etnia branca entre as pacientes e a parda entre as controles. Além disso, a população mato-grossense é constituída por etnia muito heterogênea.

Outra explicação para não se encontrar associação do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* com o CM é o fato de que o polimorfismo produz deficiência de funcionamento da P-gp na sua função de eliminar carcinógenos do meio intracelular. Esse acúmulo de carcinógenos com consequentes maiores danos ao DNA poderia levar o gene *TP53* a promover apoptose e, assim, controlar a carcinogênese celular mamária.

O presente estudo traz contribuição incrementando o conhecimento da frequência do polimorfismo C3435T do gene *MDR1* das mulheres brasileiras, principalmente das residentes em Mato Grosso.

Conclusão

A frequência do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* das mulheres estudadas em Mato Grosso é semelhante à observada na literatura.

A presença do polimorfismo C3435T no gene *MDR1* não está associada à ocorrência de CM nas mulheres estudadas.

O polimorfismo C3435T no gene *MDR1* não apresentou associação com fatores prognósticos para o CM nas mulheres estudadas.

Referências

1. Paulinelli RR, Freitas Júnior R, Curado MP, Souza AA. A situação do câncer de mama em Goiás, no Brasil e no mundo: tendências atuais para a incidência e a mortalidade. *Rev Bras Saude Mater Infant.* 2003;3(1):17-24.
2. Borzekowski DLG, Guan Y, Smith KC, Erby LH, Roter DL. The Angelina effect: immediate reach, grasp, and impact of going public. *Genet Med.* 2013;16(7):516-21.
3. Burstein HJ. Lou Gehrig, Angelina Jolie, and cancer genetics. *J Natl Compr Canc Netw.* 2013;11(6):631-2.
4. James PA, Mitchell G, Bogwitz M, Lindeman GJ. The Angelina Jolie effect. *Med J Aust.* 2013;199(10):646.
5. Nisker J. A public health education initiative for women with a family history of breast/ovarian cancer: why did it take Angelina Jolie? *J Obstet Gynaecol Can.* 2013;35(8):689-94.
6. Pocard M. Did we need a new Angelina Jolie to discuss about prophylactic surgery for colon cancer because of Mister Lynch's silence? *J Visc Surg.* 2013;151(1):1-2.
7. Howard-McNatt M. Pros and cons of screening for BRCA mutations. *N C Med J.* 2013;74(6):489-90.
8. Brambila-Tapia AJ. Functional effects and clinical implications. *Rev Invest Clin.* 2013;65(5):445-54.
9. Rodrigues FF, Santos RE, Melo MB, Silva MA, Oliveira AL, Rozenowicz RL, et al. Correlation of polymorphism C3435T of the MDR-1 gene and the response of primary chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *Genet Mol Res.* 2008;7(1):177-83.
10. Turgut S, Turgut G, Atalay EO. Genotype and allele frequency of human multidrug resistance (MDR1) gene C3435T polymorphism in Denizli province of Turkey. *Mol Biol Rep.* 2006;33(4):295-300.
11. Turgut S, Yaren A, Kursunluoglu R, Turgut G. MDR1 C3435T polymorphism in patients with breast cancer. *Arch Med Res.* 2007;38(5):539-44.
12. Wang J, Wang B, Bi J, Li K, Di J. MDR1 gene C3435T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 34 case-control studies. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012;138(6):979-89.
13. Sheng X, Zhang L, Tong N, Luo D, Wang M, Xu M, et al. MDR1 C3435T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis based on 39 case-control studies. *Mol Biol Rep.* 2012;39(7):7237-49.
14. Wang Z, Wang T, Bian J. Association between MDR1 C3435T polymorphism and risk of breast cancer. *Gene.* 2013;532(1):94-9.
15. Tatari F, Salek R, Mosaffa F, Khedri A, Behravan J. Association of C3435T single-nucleotide polymorphism of MDR1 gene with breast cancer in an Iranian population. *DNA Cell Biol.* 2009;28(5):259-63.