

Asociación del polimorfismo C3435T del gen MDR1 con leucemia linfoblástica aguda en una población del sureste mexicano

Association of C3435T polymorphism of the gene MDR1 with acute lymphoblastic leukemia in a population in southeastern Mexico

ILIANA CONCEPCIÓN QUEZADA CRUZ^{1,2}, SERGIO DOMÍNGUEZ ARREVILLAGA^{1,3}, HERMINIA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ⁵,
MARICELA CABRERA BERMÚDEZ¹, LUIS MIGUEL CANSECO ÁVILA^{1,2,3}, MARISOL ESPINOZA RUIZ¹,
KARINA DEL CARMEN TRUJILLO MURILLO^{3,4} Y ÁNGEL LUGO TRAMPE⁴

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus IV. Carretera a Puerto Madero Km 2.0. Tapachula, Chiapas, CP 30700. Correo-e:

²Doctorado en Ciencias para la Salud. Consorcio de Ciencias de la Salud.

³Hospital Regional de Alta Especialidad "Ciudad Salud".

⁴Centro Mesoamericano de Estudios en Salud Pública y Desastres-Nodo Tapachula, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus IV. Av. Principal esquina Pista Secundaria s/n. Solidaridad 2000. Tapachula, Chiapas. CP 30798.

⁵Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Fco. I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n. Mitras Centro. Monterrey, Nuevo León. CP 64460.

RECIBIDO EL 4 DE MARZO DE 2013 / ACEPTADO EL 6 DE JUNIO DE 2013

RESUMEN

La leucemia es la proliferación maligna de las células hematopoyéticas. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la malignidad más común en niños y representa 20% de las leucemias agudas en adultos. Aunque la etiología de la LLA se desconoce, factores genéticos y ambientales parecen estar involucrados. Cabe hacer mención que polimorfismos (SNP) en genes que participan en el transporte y metabolismo de xenobióticos se han asociado con un mayor riesgo para LLA. La glicoproteína-P (P-gp), producto del gen resistente a múltiples drogas (MDR1 o ABCB1), es un importante transportador de membrana dependiente de energía (ATP) que participa en la absorción, distribución y eliminación de numerosas drogas y actúa como una bomba de eflujo dependiente de energía que exporta su sustrato fuera de la célula. Con base en lo anterior el objetivo del estudio fue determinar la frecuencia del SNP C3435T (rs1045642) del gen MDR1 y su asociación con LLA en una población del sureste mexicano. Se realizó un estudio de casos y controles. Los datos clínicos fueron colectados de los expedientes clínicos. Se incluyeron 102 sujetos; 34 pacientes con LLA (la edad promedio fue 39.9 ± 18 años) y 68 controles (la edad promedio fue 40.9 ± 17.7 años). El polimorfismo fue analizado mediante PCR-RFLP. Las frecuencias observadas del SNP rs1045642 fueron similares en ambos grupos ($p=0.3090$). El grupo control estuvo en Equilibrio de Hardy Weinberg. En nuestra población de estudio no se encontró asociación entre los SNP evaluado y la predisposición a LLA.

Palabras clave: Leucemia linfoblástica aguda, polimorfismo C3435T, gen MDR1.

INTRODUCCIÓN

La leucemia es la proliferación maligna de las células hematopoyéticas (Sans, 2001), cuya acumulación progresiva se acompaña de una disminución en la producción de elementos sanguíneos normales (Hoffbrand, 2001). La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más común de la niñez y una causa importante de morbilidad y mortalidad de neoplasias hematopoyéticas en adultos (Pui, 2004; Pui, 2008). A pesar de los avances impresionantes en el resultado del tratamiento de la LLA infantil en

ABSTRACT

Leukemia is a malignant proliferation of hematopoietic cells. Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common malignancy in children and represents 20 percent of acute leukemia in adults. Although the etiology is not well understood, ALL genetic and environmental factors appear to be involved. It should be mentioned that polymorphisms (SNPs) in genes involved in the transport and metabolism of xenobiotics have been associated with an increased risk for ALL. The P-glycoprotein (P-gp), product of the Multi-Drug Resistance-1 (MDR1) gene, is an important ATP energy-dependent transporter membrane which is involved in the absorption, distribution, and elimination of numerous drugs and which acts as an energy-dependent efflux pump that exports its substrates out of the cell. Based on the above, the aim of this study was to determine the frequency of the C3435T (rs1045642) SNP of the MDR-1 gene and to determine its association with ALL in a population in southeastern Mexico. A study of cases and controls was performed. The clinical data were collected from medical records. One hundred and two subjects were included: 34 patients with ALL (the median age was 39.9 ± 18 years) and 68 controls (the median age was 40.9 ± 17.7 years). They were typed by PCR-RFLP. The observed frequencies of the rs1045642 SNP were similar in both groups ($p=0.3090$). The control group was in Hardy Weinberg Equilibrium. In our study population, no association between the SNP evaluated and predisposition to ALL was found.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, C3435T polymorphism, MDR1 gene.

las últimas cinco décadas, con tasas de curación que ya supera el 80% (Pui, 2010; Pui, 2009), la LLA recidivante sigue siendo la principal causa de muerte por cáncer en niños y jóvenes adultos (Rowe, 2005; Fielding, 2007; Nguyen, 2008). En los adultos existe una tasa elevada de remisión después del tratamiento inicial; sin embargo, sólo 20-40% de los pacientes logran sobrevivir a largo plazo (Thomas, 2003). Aunque la etiología de la LLA no se conoce bien, factores genéticos y ambientales parecen estar involucrados. Por consiguiente, un mayor riesgo de LLA se

ha asociado con polimorfismos en los genes que participan en el transporte y metabolismo de xenobióticos (Jamroziak, 2004; Belson, 2007). La glicoproteína-P (P-gp), producto del gen resistente a múltiples drogas (MDR1 o ABCB1), es un importante transportador de membrana dependiente de energía (ATP) que participa en la absorción, distribución y eliminación de numerosas drogas y actúa como una bomba de flujo dependiente de energía que exporta su sustrato fuera de la célula (Hartmann, 2001; Arceci, 1993; Szakács, 2004). La expresión de la P-gp en células tumorales está asociada con el fenotipo de resistencia a múltiples drogas en algunas malignidades hematológicas, por ejemplo Leucemia Mieloide Aguda (LMA) o LLA en adultos. La mayoría de los sustratos antitumorales de la P-gp son los alcaloides de la Vinca, como lo son la vincristina y la vinblasina, atraciclinas como daunorrubicina y doxorrubicina, las epipodófilotoxinas como el etopósido y tenopósido y más recientemente los inhibidores de cinasa de tirosina (Jamroziak, 2005; Tafuri, 2002; Illmer, 2002; Fernández, 1998). Hoffmayer (2000) y Ameyaw (2001) reportaron un polimorfismo silencioso que está asociado con la expresión de la P-gp; este polimorfismo consiste de un cambio de la C a T en la posición 3435 en el exón 26 del gen MDR-1. Individuos con el genotipo T3435T tienen menor expresión y función duodenal de la P-gp que los del genotipo C3435C (Hoffmayer, 2000; Drozdziak, 2004).

El SNP C3435T en el gen MDR-1(rs1045642) ha sido asociado con el riesgo de padecer Leucemia (Illmer, 2002); sin embargo, datos publicados no son concluyentes (Jamroziak, 2004), pero encontraron asociación entre el polimorfismo C3435T del gen MDR1 y LLA y que además el genotipo TT estaba asociado con la aparición de LLA, al igual que lo reportado por Hattori (2007) con respecto al genotipo TT. Lü, H. (2012), Miladpour (2009), al igual que Nageswara (2010), encontraron asociación entre el genotipo TT y el riesgo de LLA; además, hallaron que el genotipo CC podría estar unido a un peor pronóstico de LLA, al igual que lo reportado por Ozdemir (2013), pero con respecto al cáncer diferenciado de tiroides.

Urayama (2007) encontró que los portadores de haplotipos CGC son menos susceptibles a leucemias por pesticidas.

Sheng (2012) sugiere que este SNP contribuye al riesgo de cáncer, pero principalmente en malignidades hematológicas, mama, renal y en caucásicos.

En otros reportes encuentran que el SNP C3435T del gen MDR1 no contribuye a la resistencia a drogas o al pronóstico en los pacientes con LLA, como lo demostraron Efferth (2003) y Jamroziak (2005). Leal-Ugarte (2008) no encontró asociación entre la presencia del genotipo CT o TT con el riesgo de desarrollar LLA en niños mexicanos. Wang (2012) sugiere que el SNP está asociado con la susceptibilidad al riesgo de cáncer, principalmente de mama y renal, ya que no encontró asociación con cáncer colorectal, gástrico y LLA. En otro estudio realizado por Wang (2013), sugiere que este SNP está asociado con la susceptibilidad al riesgo de cáncer de mama.

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia del SNP C3435T (rs1045642) del gen MDR1 y su asociación con la LLA en una población del sureste mexicano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Paciente

En el estudio se incluyeron pacientes que acudieron al Hospital Regional de Alta Especialidad “Ciudad Salud”, en el periodo comprendido de enero de 2011 a diciembre de 2012, con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda, y que aceptaron participar con previa firma de una carta de consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética y el Comité de Enseñanza, Investigación y Capacitación del Hospital Regional de Alta Especialidad “Ciudad Salud”, de acuerdo con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos aceptados en la Declaración de Helsinki de 1964 y todas sus enmiendas vigentes.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Pacientes diagnosticados con LLA por el Departamento de Hematología del HRAE “Ciudad Salud”. Se les realizaron pruebas hematológicas, bioquímicas, inmunofenotipo y cariotipo.
- Mayores de edad.

- Ambos géneros.

Los criterios de exclusión fueron:

- Pacientes con diagnóstico distinto de LLA y que no aceptaron participar en el estudio.

Los criterios de eliminación fueron:

- Muestra escasa para el análisis, muestras degradadas, información incompleta.

Grupo control

Se incluyeron sujetos sanos, mayores de 18 años, que acudieron y cumplieron los criterios establecidos por el Banco de Sangre del Hospital Regional de Alta Especialidad (HRAE) "Ciudad Salud".

Toma de muestras

A los pacientes con leucemia y grupo control que aceptaron participar en el estudio, se les tomó una muestra de 5-8 ml de sangre periférica por punción venosa, la cual se colocó en tubos con EDTA, se mezclaron y se transportaron en hielo al Laboratorio de Diagnóstico Molecular (Laboratorio Escuela, de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNACH), donde se continuó inmediatamente con la estrategia experimental del estudio.

Extracción de ADN genómico

A partir de 500 µl de la muestra sanguínea se extrajo el ADN genómico empleando el método estándar de lisis celular con buffer TSNT y extracción fenol-cloroformo; el ADN genómico se precipitó con isopropanol y se resuspendió en 30 µl de buffer TE 1X.

Genotipificación del SNP C3435T del gen MDR1

Para determinar el polimorfismo del gen MDR1 se obtuvo el ADN mediante la técnica de fenol-cloroformo obtenido de las células mononucleares de pacientes y controles y para la búsqueda del SNP reportado en la secuencia codificadora, se realizó primero una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando el juego de iniciadores específico para el polimorfismo, el cual fue utilizado para amplificar por PCR el fragmento correspondiente y posteriormente analizado para detectar la variante polimórfica mediante RFLPs.

Los oligonucleótidos empleados fueron los siguientes para el SNP C3435T: (primer forward 5'-TGTTTTTCAGCTGCTTGATGG-3'; primer reverse 3'-AAGGCATGTATGTTGGCCTC-5'. El tamaño del amplicon que se obtiene con los oligonucleótidos es: 197pb. La reacción de PCR se preparó en un volumen final de 25 µl, reacción 1X: Agua MQ 13 µl, buffer 2.5 µl, 2.5 µL MDR1 F, 2.5 µl MDR1 R, 1.5 µl MgCl₂, 0.5 µl dNTPs, 0.5 µl Taq (GoTaq) y 2 µl ADN genómico. El programa de amplificación fue de 5 minutos a 94 °C como etapa pre-PCR, 40 ciclos de 94°C/30 seg, 55 °C/30 seg, 72°C/30 seg, y 72°C/7 min. Los amplicones obtenidos fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2% en buffer TAE 1X a 100 volts durante 40 minutos; posteriormente el gel se tiñó con bromuro de etidio (BrEt) y los resultados se visualizaron por exposición a luz UV.

Los fragmentos amplificados fueron digeridos con la enzima de restricción Sau3A1 (10 U/µl, marca Promega) durante 4 h a 37°C. Posteriormente los fragmentos generados fueron separados en geles de agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio y observados con una lámpara de luz UV (Cuadro 1).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software STATA, versión 11, y para el análisis de los genotipos se utilizó el TaqMan® Genotyper Software, versión 1.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se incluyó un total de 102 sujetos, de los cuales 34 eran pacientes con LLA (38% hombres y 62% mujeres), (la edad promedio fue 39.9 ± 18 años) y 68 controles (28% hombres y 72% mujeres), (la edad promedio fue 40.9 ± 17.7 años) (Cuadro 2),

Cuadro 1. Iniciadores y enzima de restricción

Nombre del primer	Secuencia del primer	Enzima de restricción	Fragmento (Pb)	Horas (h)	Temperatura °C
Primer 1	5'-TGT TTT CAG CTG CTT GAT GG 3'		*158, *39		
		<i>Sau3A1</i>		4	37
Primer 2	3'-AAGGCA TGT ATG TTG GCC TC-5'		**197		

* Fragmentos del alelo silvestre; ** Fragmentos del alelo variante, Pb, pares de bases,

Cuadro 2. Características demográficas de la población de estudio

Características	LLA (n=34)	Control (n=68)
Edad (años)	39.9±18	40.9±17.7
Sexo Femenino	21(62%)	49(72%)
Sexo Masculino	13(38%)	19(28%)

Los resultados son expresados como media ± DS o frecuencia (%).

los cuales se genotipificaron por la técnica de PCR-RFLP (Figura 1). La presencia de un amplicon de 197 pb es indicativa de la presencia del alelo T, mientras que la presencia de un amplicon de 158 pb es indicativa de la presencia del alelo C. El resultado de la presencia de las dos bandas indica que el paciente es heterocigoto. La banda de 200 pb es el control interno de amplificación.

Se obtuvieron los siguientes resultados: Para el grupo control 16% C/C, 50% C/T y 34% T/T y para el grupo de pacientes 9% C/C, 59% C/T y 32% T/T. En los pacientes con LLA la frecuencia alélica fue de 0.38 para el alelo C y 0.62 para el alelo T; en el grupo control, la frecuencia alélica fue de 0.41 y 0.59 para el alelo C y T, respectivamente. No hubo diferencias significativas en la frecuencia genotípica ($P=0.3090$). El valor de OR fue de 1.99, lo cual nos indica que no se encontró asociación entre este polimorfismo y la LLA. Nuestros resultados concuerdan con otros estudios realizados, en el cual no encontramos asociación de este polimorfismo con la LLA (Efferth, 2003; Jamroziak, 2005; Leal-Ugarte, 2008; Wang, 2012). Leal-Ugarte reportó además mayor frecuencia del genotipo

CT; en nuestro estudio también encontramos una mayor frecuencia de este genotipo (50% grupo control y 59% grupo de pacientes).

Así mismo, la población control mostró estar en equilibrio de acuerdo con los criterios de Hardy Weinberg ($X^2=0.070$, $P=0.7909$). Como se muestra en el Cuadro 3.

Las diferencias entre varios estudios podrían deberse al tamaño de muestra, factores ambientales, genéticos, etc. Finalmente, cabe hacer mención que con la finalidad de esclarecer más los hallazgos presentados en esta investigación, sería conveniente incrementar la población de estudio, tratando de aparear por edad y sexo a la población control.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que la presencia del genotipo TT o CT no incrementa el riesgo de LLA en la población del sureste mexicano; sin embargo, falta realizar más estudios sobre el gen MDR-1 en la población mexicana.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por SIINV-UNACH convocatoria 2011. Al Hospital Regional de Alta Especialidad "Ciudad Salud" por las facilidades para proporcionar las muestras.

REFERENCIAS

- Sans SJ. (2001). Hematología clínica. Ediciones Harcourt, Madrid, España.
- Hoffbrand A. (2001). Essential Haematology, Blackwell Science Ltd. Oxford.

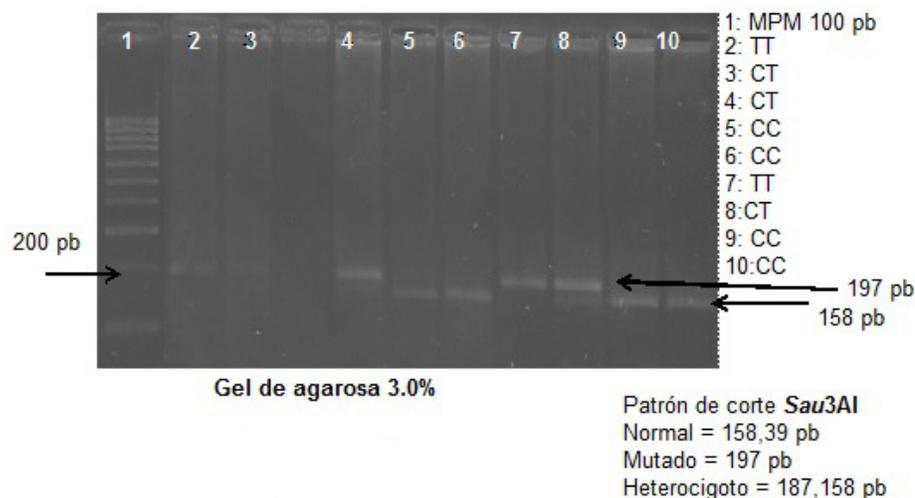


Figura 1. Producto amplificado del gen MDR1 C3435T control y digestión con enzima de restricción *Sau 3AI*.

Cuadro 3. Frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo C3435T del gen MDR-1 en pacientes y en el grupo control

Genotipo	n	Frecuencia genotípica	Alelo	n	Frecuencia alélica	Valor de P	OR
Casos							
C/C	3	9	C	26	0.3824	0.3090	1.99
C/T	20	59	T	42	0.6176		
T/T	11	32					
Total	34	100		68	1.0000		
Controles							
C/C	11	16	C	56	0.4118		
C/T	34	50	T	80	0.5882		
T/T	23	34					
Total	68	100		136	1.0000		

C/C= Homocigoto normal C/T= Heterocigoto T/T= Homocigoto mutado
Prueba de Equilibrio de Hardy Weinberg (X²= 0.070; P= 0.7909)

- Pui CH, Relling MV, Downing JR. (2004). Acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*; 350: 1535-1548.
- Pui CH, Robison LL, Look AT. (2008). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*; 371: 1030-1043.
- Pui CH, Pei D, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Raimondi SC et al. (2010). Long-term results of St Jude total therapy studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*; 24: 371-382.
- Pui CH, Campana D, Pei D, Bowman WP, Sandlund JT, Kaste SC et al. (2009). Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *The New England Journal of Medicine*; 360: 2730-2741.
- Rowe JM, Buck G, Burnett AK, Chopra R, Wiernik PH, Richards SM et al. (2005). Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ECOG E2993. *Blood*; 106: 3760-3767.
- Fielding AK, Richards SM, Chopra R, Lazarus HM, Litzow MR, Buck G et al. (2007). Outcome of 609 adults after relapse of acutelymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood*; 109: 944-950.
- Nguyen K, Devidas M, Cheng SC, La M, Raetz EA, Carroll WL et al. (2008). Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *Leukemia*; 22: 2142-2150.
- Thomas X, Le QH. (2003). Prognostic factors in adult acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*; 8:233-42.
- Jamroziak K, Mlynarski W, Balcerczak E, Mistygacz M, Trelińska J, Mirowski M. (2004). Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol*; 72: 314-21.
- Belson M, B Kingsley and A Holmes. (2007). Risk factors for acute leukemia in children: A review. *Environ. Health Perspect.* 115:138-145.
- Hartmann G, Kim H, Piquette-Miller M. (2001). Regulation of the hepatic multidrug resistance gene expression by endotoxin and inflammatory cytokines in mice. *Internacional Immunopharmacology*; 1: 189-99.
- Arceci RJ. (1993). Clinical significance of P-glycoprotein in multidrug resistance malignancies. *Blood*; 81:2215-22.
- Szakács G, Gottesman MM. (2004). Comparing Solid Tumors with Cell Lines: Implications for Identifying Drug Resistance Genes in Cancer. *Molecular interventions*; 4:323-325.
- Jamroziak K, Balcerczak E, Cebula B, Kowalczyk M, Panczyk M, Janus A. (2005). Multi-drug transporter MDR1 gene polymorphism and prognosis in adult acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacol Rep*; 57: 882- 88.
- Tafuri A, Gregorj C, Petrucci MT, Ricciardi MR, Mancini M, Cimino G. (2002). MDR1 protein expression is an independent predictor of complete remission in newly diagnosed adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood*; 100: 974-81.
- Illmer T, Schuler US, Thiede C, Schwarz UI, Kim RB, Gotthard S. (2002). MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Res*; 62: 4955-62.
- Fernández AJ, Crombet RO, Villares AI et al. (1998). Resistencia a drogas mediada por la glicoproteína-P. *Revista Cubana de Oncología*; 14:111-120.
- Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A. (2001). MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics*; 11: 217-21.
- Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A. (2000). Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*; 97: 3473-78.
- Drozdziak M, Mysliwiec K, Lewinska-Chelstowska M, Banach J, Drozdziak A, Grabarek J. (2004). P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival overgrowth. *J ClinPeriodontol*; 31: 758-63.
- Illmer T, Schuler US, Thiede C, Schwartz UI, Kim RB, Gotthard S, Freund D et al. (2002). MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Res*, 62: 4955-4962.
- Jamroziak K, Mlynarski W, Balcerczak E, Mistygacz M, Trelińska J, Mirowski M. (2004). Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol*; 72: 314-21.
- Hattori H., Suminoe, Wada M et al. (2007). Regulatory polymorphisms of multidrug resistance 1 (MDR1) gene are associated with the development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res*, 31, 1633-40.
- Miladpour B, Shokouhi A, Shirde A, Heravi1 E, Banihashem A, Esmaeili H et al. (2009). Association of Acute Lymphoblastic Leukemia and MDR1 Gene Polymorphism in an Ethnic Iranian Population; *Iranian Journal of Blood and Cancer* 2: 63-67.
- Nageswara R, Anuradha C, Vishnupriya S, Sailaja K, Surekha S, Raghunadharao D et al. (2010). Association of an MDR1 Gene (C3435T) Polymorphism with Acute Leukemia in India; *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol. 11.

- Ozdemir S, Uludag A, Silan F, Yalcintepe Atik S, Turgut B, Ozdemir O. (2013). Possible Roles of the Xenobiotic Transporter P-glycoproteins Encoded by the MDR1 3435 C>T Gene Polymorphism in Differentiated Thyroid Cancers; *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol. 14 (5), 3213-3217.
- Urayama Kevin et al. (2007). MDR-1 Gene Variants, Indoor Insecticide Exposure, and the Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia; *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 16(6).
- Sheng X, Zhang L, Tong N, Luo D et al. (2012). MDR1 C3435T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis based on 39 case-control studies. *Molecular Biology Reports*.
- Efferth T, Sauerbrey A, Steinbach D, Gebhart E, Drexler HG, Miyachi H et al. (2003). Analysis of single nucleotide polymorphism C3435T of the multidrug resistance gene MDR1 in acute lymphoblastic leukemia. *Int J Oncol*, 23, 509-517.
- Jamrozziak K, Balcerczak E, Cebula B, Kowalezyk M, Panczyk M, Janus A. (2005). Multi-drug transporter MDR1 gene polymorphism and prognosis in adult acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacol Rep*; 57: 882- 88.
- Leal-Ugarte E, Gutiérrez-Angulo M, Macías-Gómez NM, Peralta-Leal V, Durán-González J., De La Luz Ayala-Madrigal et al. (2008). MDR-1 C3435T Polymorphism in Mexican Children with Acute Lymphoblastic Leukemia and in Healthy Individuals. *Human Biology*, Volume 80, Number 4, pp. 449-455.
- Lü H, Du ZZ, Wang W, Wang W, Zhao WL, Wang Y et al. (2012). Relationship between genetic polymorphism of multidrug resistance 1 gene and the risk of childhood acute lymphocytic leukemia. *Zhonghua Er Ke Za Zhi, Chinese Journal of pediatrics*. 50(9):692-6.
- Wang G, Wang B, Bi J, Li K, Di J et al. (2012). MDR1 gene C3435T polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 34 case-control studies. *Journal of Cancer research and clinical oncology*. 138: 979-989.
- Wang Z, Wang T, Bian J. (2013). Association between MDR1 C3435T polymorphism and risk of breast cancer. *Journal Gene*. 94-99.