Fattori di rischio per melanoma cutaneo maligno in una popolazione italiana: sintesi dei risultati di uno studio caso-controllo

Risk factors of cutaneous malignant melanoma in an Italian population: Results of a case-control study

Andrea Baccarelli,[1,2] Maria Teresa Landi[1]

[1]Genetic Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute NIH, DHHS, Bethesda, USA
[2]Centro di ricerca di epidemiologia occupazionale, clinica e ambientale EPOCA, Clinica del lavoro "L. Devoto" Università degli Studi, Milano, Italy

Corrispondenza: Andrea Baccarelli, Genetic Epidemiology Branch, National Cancer Institute/NIH 6120 Executive Blvd. - EPS 7110 Bethesda MD 20892-7236, USA e-mail: baccarea@mail.nih.gov

Riassunto

L'incidenza del melanoma cutaneo è in rapido aumento nella popolazione mondiale e nei paesi mediterranei. L'esposizione solare è stata associata al rischio di melanoma, ma i meccanismi cancerogenetici implicati sono poco noti. Le radiazioni UV causano alterazioni del DNA riparate principalmente tramite escissione nucleotidica. Il presente articolo riassume i risultati di uno studio caso-controllo condotto presso l'Ospedale Bufalini di Cesena per valutare fattori di rischio personali e ambientali del melanoma cutaneo. Abbiamo arruolato 183 casi incidenti di melanoma cutaneo e 179 controlli selezionati principalmente tra partner/conoscenti dei casi. La presenza di nevi atipici (OR: 4,2; IC 95%: 2,4-7,4), bassa tendenza all'abbronzatura (OR: 2,4; IC 95%: 1,1-5,0) e colore chiaro di cute (OR: 4,1; IC 95%: 1,4-12,1) e occhi (OR: 2,4; IC 95%: 1,1-5,2) sono risultati fortemente associati al melanoma cutaneo. Presentiamo qui un diagramma che indica il rischio di melanoma per le varie combinazioni di questi fattori di rischio. Utilizzando la metodica dell'*host-cell reactivation assay* abbiamo misurato in linfociti periferici la capacità individuale di riparazione del DNA (DRC) dopo irradiazione con UV. Livelli di DRC inferiori alla mediana dei controlli sono risultati associati al rischio di melanoma in soggetti con bassa tendenza all'abbronzatura (OR: 8,6; IC 95%: 2,7-27,5) comparati con soggetti con alta DRC e alta/media tendenza all'abbronzatura, o in soggetti con nevi atipici (OR: 6.7; IC 95%: 2,4-18,6) comparati con soggetti con alta DRC e senza nevi atipici. Questi risultati possono facilitare l'identificazione di soggetti ad alto rischio che potrebbero maggiormente beneficiare di misure preventive in popolazioni mediterranee.

(*Epidemiol Prev* 2002; 293-99)

Parole chiave: melanoma cutaneo maligno, Italia, studio caso-controllo

Abstract

Cutaneous melanoma incidence rates are rapidly increasing worldwide, including in the Mediterranean countries. Sunlight exposure has been associated with melanoma, but the mechanisms of UV radiation-induced carcinogenesis is still largely unknown. In mammalian cells, UV radiation induces DNA damage that can be repaired mostly by the nucleotide excision repair system. We summarize here the results of a case-control study conducted at the Bufalini Hospital in Cesena, Italy to assess host and environmental risk factors for melanoma. We recruited 183 incident cutaneous melanoma cases and 179 controls selected predominantly among partners or close friends of the cases. Presence of dysplastic/atypical nevi (OR: 4.2; 95% CI: 2.4-7.4), low propensity to tan (OR: 2.4; 95%CI 1.1-5.0), light skin (OR: 4.1; 95% CI: 1.4-12.1), and light eye color (OR: 2.4; 95%CI: 1.1-5.2) were the strongest risk factors for melanoma in this population. A chart identifying melanoma risk associated with multiple combinations of these factors is presented. We used the host-cell reactivation assay on subjects' lymphocytes to measure individual DNA repair capacity (DRC) after UV-induced DNA damage. Subjects with low tanning ability and low DRC had a higher melanoma risk (OR: 8.6; 95% CI: 2.7-27.5) than those with higher tanning ability and high DRC. Subjects with dysplastic nevi and low DRC had a higher risk (OR: 6.7; 95% CI: 2.4-18.6) than those lacking dysplastic nevi and with high DRC. These results may help identify high-risk subjects in the Mediterranean populations who would the benefit from preventive measures.

(*Epidemiol Prev* 2002; 26: 293-99)

Key words: cutaneous malignant melanoma, Italy, case-control study

L'incidenza del melanoma cutaneo (MC) è in continua crescita nella popolazione bianca in concomitanza con l'incremento dei livelli delle radiazioni ultraviolette (UV) rilevate alla superficie terrestre e di modificazioni delle abitudini di esposizione alla luce solare.[1,2] I tassi più alti di MC sono registrati in Australia, dove una popolazione prevalentemente celtica risiede in un area subtropicale.[3] In Europa, la frequenza di MC tende a essere più alta nei paesi settentrionali, dove predominano carnagione e capelli chiari, mentre le popolazioni dell'area mediterranea sono state considerate a basso rischio a causa della loro carnagione relativamente scura. Tuttavia, in Italia, Spagna, Francia ed ex-Jugoslavia i tassi di incidenza sono in progressi-

vo aumento.[4-8] Uno studio condotto in Emilia-Romagna ha messo in luce un aumento dell'incidenza da 5,0 a 10,0/100.000 *ap* nel sesso maschile e da 9,0 a 13,1/100.000 *ap* nel sesso femminile tra il 1986 e il 1997.[9] In una recente pubblicazione della IARC,[3] i tassi nazionali di incidenza di MC in Italia per l'anno 2000 sono stati stimati pari a 4,6 casi/100.000 *ap* per gli uomini e 5,5 casi/100.000 *ap* per le donne.

L'esposizione a luce UV è stata indicata come il principale fattore di rischio ambientale per il MC.[2,10] Le radiazioni UV producono a livello della cute due tipi principali di danno del DNA: i dimeri pirimidinici del ciclobutano e i fotoprodotti 6-4.[10,11] Nell'uomo le lesioni prodotte dalle radiazioni UV sono riparate principalmente dal sistema di riparazione per escissione nucleotidica (Nucleotide Excision Repair-NER).[12,13] I soggetti affetti da *xeroderma pigmentosum*, una rara patologia caratterizzata da deficit ereditario del NER, possiedono un rischio 1.000 volte più elevato di sviluppare tumori cutanei, MC incluso.[14,15]

Il numero di nevi e la presenza di nevi atipici (NA) o displastici sono considerati i più importanti predittori del rischio di MC,[16] anche se solo una frazione dei MC insorge su nevi preesistenti. Altri fattori di rischio noti per MC sono costituiti dalla sensibilità cutanea al sole, dal numero di ustioni solari, dalla presenza di lentiggini e da capelli, occhi e cute di colore chiaro.[16,17] Circa il 2,5-18% dei pazienti riferiscono una storia familiare di MC.[18-20] Tutti questi fattori di rischio sono stati in gran parte studiati in popolazioni dove sono prevalenti carnagione chiara, lentiggini e tendenza all'ustione solare. Nelle popolazioni mediterranee la loro frequenza è differente e la loro rilevanza nella patogenesi del MC può variare.[21-28]

Abbiamo recentemente condotto uno studio caso-controllo al fine d'indagare fattori di rischio per MC in una popolazione mediterranea.[29-31] 183 casi di MC e 179 controlli sono stati reclutati tra il dicembre 1994 e il gennaio 1999 presso l'Unità di dermatologia dell'Ospedale M. Bufalini di Cesena. I casi sono stati arruolati dopo rimozione chirurgica della lesione e prima dell'inizio di un eventuale trattamento chemio o radioterapico. Nel periodo dello studio circa l'85% dei casi di MC provenienti dalle Marche settentrionali e dalla parte meridionale della Romagna sono stati esaminati presso l'Ospedale Bufalini, come verificato in base ai tassi di incidenza del Registro Tumori della Romagna[6] e ai dati degli archivi dei principali centri ospedalieri dell'area. I controlli sono stati reclutati tra i *partner* o tra persone legate da stretta amicizia ai casi (n=134), tra pazienti ambulatoriali giunti all'Ospedale Bufalini a causa di un trauma accidentale di grado lieve (n=14) e tra lavoratori sani dell'Ospedale Bufalini (n=31). La selezione dei controlli è stata basata su un *matching* di frequenza per età e sesso. Il 95% dei casi e l'83% dei controlli hanno accettato di partecipare allo studio.

I soggetti sono stati sottoposti a esame obiettivo della cute eseguito da un solo dermatologo, che ha anche determinato il colore della cute, degli occhi e dei capelli di ciascun individuo. Il colore della cute è stato rilevato nella porzione volare dell'avambraccio utilizzando una scala soggettiva di tre categorie. Per il colore degli occhi e per il colore dei capelli sono state utilizzate scale di 9 e di 6 categorie, rispettivamente.[29] Un oncologo ha effettuato le diagnosi di NA e ha accertato il numero di nevi utilizzando fotografie della schiena dei soggetti. La conta del numero di nevi e le diagnosi di NA sono quindi state limitate al dorso. Studi precedenti hanno mostrato un'alta correlazione tra il numero dei nevi del dorso e la loro conta su tutto il corpo (r=0,82 nelle donne e r=0,90 negli uomini)[32] ed una notevole riproducibilità delle diagnosi di NA effettuate su materiale fotografico.[33] Per essere classificato come atipico, un nevo doveva avere un diametro ≥5 mm, essere prevalentemente piatto e avere almeno due delle seguenti caratteristiche: pigmentazione variabile, forma irregolare e margini sfumati.[34] Tutti i soggetti sono stati sottoposti a prelievo di sangue. Un questionario precedentemente testato in uno studio pilota è stato somministrato ai casi e ai controlli da intervistatori specificamente addestrati. Le domande del questionario erano state formulate per raccogliere informazioni sulla diagnosi di MC e sulla eventuale terapia, sulla storia abitativa, sulla scolarità, sulle caratteristiche del fenotipo cutaneo, sul consumo di tabacco e di bevande, sulla storia professionale, sulla anamnesi personale e familiare e sull'uso di farmaci. Il questionario conteneva domande specifiche sul tipo e sulla durata di attività svolte all'aria aperta, sul luogo, sul tipo e sulla durata di esposizione alla luce solare durante i periodi di vacanza, sull'utilizzo di creme protettive, sulla reazione della cute a esposizione solare di differente durata, sulla storia pregressa di ustioni solari e sull'uso di lampade a UV.

Modelli di regressione logistica sono stati utilizzati per calcolare gli Odd Ratio, i relativi intervalli di confidenza al 95% e i test per il *trend* per variabili ordinali. La regressione logistica era non condizionata, ma conteneva i termini delle variabili di *matching* (sesso ed età). Per le analisi basate su sottogruppi o per fattori di rischio poco frequenti nei soggetti studiati, le analisi sono state ripetute utilizzando modelli di analisi logistica condizionata, senza ottenere variazioni apprezzabili delle stime dei parametri di interesse e dei loro intervalli di confidenza. Tutte le analisi statistiche sono state ripetute escludendo il gruppo dei controlli reclutati tra il lavoratori dell'Ospedale Bufalini o il gruppo di pazienti ambulatoriali con trauma lieve senza ottenere nessuna differenza sostanziale dei risultati. I risultati riportati sono stati ottenuti utilizzando l'intero gruppo di soggetti di controllo (n=179).

Il rischio individuale di MC è il risultato della presenza di molteplici fattori di rischio personali che possono agire in combinazione con fattori ambientali e comportamentali. Nel presente studio il rischio di MC è risultato, come atteso, dipendente dalle caratteristiche correlate alla pigmentazione, quali il colore dei capelli, degli occhi e della cute, la tendenza alla abbronzatura, la reazione cutanea dopo breve esposizione solare, la presenza di lentiggini e di NA, il numero di

	Casi (n.=183)	Controlli (n.=179)	OR	(IC 95%)	p-trend	OR	(IC 95%)	p-trend
			Controllati per sesso ed età			Controllati per variabili multiple†		
Sesso								
maschi	87 (47,5%)	89 (49,7%)						
femmine	96 (52,5%)	90 (50,3%)						
Età media (±SD)	48,5 (±14,9)	45.8 (±13,6)						
Colore dei capelli								
nero	10 (5,6%)	24 (13,4%)	1,0	-		1,0	-	
marrone scuro	91 (50,6%)	101 (56,4%)	2,3	(1,0 - 5,2)		1,7	(0,7 - 4,4)	
marrone chiaro-rossiccio	54 (30,0%)	43 (24,0%)	3,3	(1,4 - 7,9)		1,5	(0,5 - 4,1)	
biondo	23 (12,8%)	11 (6,2%)	5,4	(1,9 -15,7)		1,6	(0,5 - 5,7)	
rosso	2 (1,1%)	0 (0%)	-	-	<0,001		-	0,640
Colore degli occhi ‡								
scuro	46 (25,1%)	75 (42,1%)	1,0	-		1,0	-	
medio	103 (56,3%)	85 (47,8%)	2,0	(1,3 - 3,3)		1,8	(1,0 - 3,0)	
chiaro	34 (18,6%)	18 (10,1%)	3,0	(1,5 - 6,0)	<0,001	2,4	(1,1 - 5,2)	0,013
Colore della cute								
scuro/olivastro	6 (3,3%)	29 (16,2%)	1,0	-		1,0	-	
medio	73 (40,1%)	92 (51,4%)	3,4	(1,3 - 8,7)		2,6	(0,9 - 7,2)	
chiaro	103 (56,7%)	58 (32,4%)	8,2	(3,2 -21,2)	<0,001	4,1	(1,4 -12,1)	0,009
Lentiggini	107 (59,1%)	80 (45,2%)	1,8	(1,1 - 2,7)		1,3	(0,8 - 2,1)	
Tendenza all'abbronzatura dopo esposizione solare prolungata								
alta	35 (20,0%)	61 (35,1%)	1,0	-		1,0	-	
media	80 (45,0%)	87 (50,0%)	1,5	(0,9 - 2,6)		0,9	(0,5 - 1,6)	
bassa	63 (35,4%)	26 (14,9%)	4,3	(2,3 - 8,1)	<0,001	2,4	(1,1 - 5,0)	0,027
Risposta cutanea dopo 30 minuti di esposizione solare								
abbronzatura senza ustioni	41 (22,4%)	61 (34,1%)	1,0	-		1,0	-	
ustione lieve/media	96 (52,5%)	92 (51,4%)	1,5	(0,9 - 2,5)		1,2	(0,7 - 2,1)	
ustione severa/con vescicole	46 (25,1%)	26 (14,5%)	2,8	(1,5 - 5,2)	0,002	1,4	(0,7 - 2,8)	0,412
Nevi atipici	73 (39,9%)	31 (17,3%)	4,4	(2,6 - 7,5)		4,2	(2,4 - 7,4)	
Numero di nevi§								
0-12	16 (10,0%)	36 (21,2%)	1,0	-		1,0	-	
13-20	19 (11,9%)	32 (18,8%)	1,6	(0,7 - 3,8)		1,8	(0,7 - 4,6)	
21-34	33 (20,6%)	30 (17,7%)	3,4	(1,5 - 7,6)		3,0	(1,2 - 7,6)	
35-51	29 (18,1%)	38 (22,4%)	2,3	(1,0 - 5,1)		1,7	(0,7 - 4,4)	
52-190	63 (39,4%)	34 (20,0%)	6,3	(2,9 -13,9)	<0,001	3,4	(1,3 - 8,9)	0,027
Numero di ustioni solari con vescicole								
nessuna	149 (81,4%)	152 (84,9%)	1,0	-		1,0	-	
1-5	19 (10,4%)	23 (12,9%)	0,9	(0,5 - 1,7)		0,8	(0,4-1,8)	
>5	15 (8,2%)	4 (2,2%)	4,4	(1,4 -13,6)	0,052	2,5	(0,7-8,9)	0,357
Grado di istruzione#								
nessuna/licenza elementare	53 (29,0%)	41 (27,9%)	1,0	-		1,0	-	
scuola media inferiore	44 (24,0%)	38 (25,9%)	1,2	(0,6 - 2,5)		1,4	(0,6-3,1)	
diploma	55 (30,1%)	51 (34,7%)	1,1	(0,6 - 2,2)		1,0	(0,5-2,1)	
università senza laurea*	15 (8,2%)	8 (5,4%)	2,0	(0,7 - 5,7)		2,0	(0,6-6,3)	
laurea	16 (8,7%)	9 (6,1%)	1,9	(0,7 - 5,1)	0,153	2,6	(0,8-7,9)	0,122

†Risultati controllati per sesso, età, presenza di nevi atipici, colore della pelle, colore degli occhi e tendenza alla abbronzatura dopo esposizione solare ripetuta in modelli di analisi logistica multivariata. ‡Scuro: nero o marrone scuro. Medio: marrone chiaro, marrone-verde, verde o azzurro-verde. Chiaro: azzurro, blu o grigio. §Categorie basate sui quintili del numero di nevi nei controlli. # I controlli reclutati tra il personale dell' Ospedale Bufalini sono stati esclusi dalla analisi riguardante il grado di istruzione. *Università iniziata ma non terminata\Diploma parauniversitario.
Il numero totale dei soggetti può variare tra le diverse variabili a causa della non disponibilità in alcuni soggetti della informazione di interesse. Da Landi e coll.,[29] modificata.

Tabella 1. Caratteristiche dei soggetti dello studio e rischio di melanoma cutaneo.

Table 1. Characteristics of study subjects and risk of cutaneous malignant melanoma.

nevi comuni e di pregresse ustioni solari (tabella 1).[29]
Come atteso, i soggetti con grado di istruzione superiore, che avevano una minore esposizione al sole durante l'attività lavorativa e un maggior numero di ore di esposizione in vacanza, hanno mostrato un rischio più elevato (tabella 1). E' da notare come l'utilizzo di coniugi/partner o conoscenti dei casi come controlli possa aver diminuito le differenze nel grado di istruzione tra i casi e i controlli e contribuito alla mancanza di significatività statistica. Questo risultato, infatti, è in accordo con l'ipotesi derivante da studi epidemiologici che indicano l'esposizione solare intermittente come importante fattore eziologico del MC. L'esposizione continuativa, all'opposto, potrebbe conferire una protezione verso lo sviluppo della neoplasia, in particolare in soggetti con buona tendenza all'abbronzatura.[35] Non è stato possibile rilevare, tuttavia, nessuna associazione significativa tra l'esposizione solare in vacanza o per motivi professionali e il rischio di MC. L'assenza di effetto dell'esposizione solare è stata confermata anche dopo che i soggetti sono stati stratificati in base all'uso di creme protettive che, peraltro, non sono risultate associate a una diminuzione del rischio di MC. L'uso di lampade a luce UV è risultato correlato a un lieve e non significativo incremento del rischio di MC (OR: 1,3; IC 95%: 0,7-2,4).
La misura dell'esposizione cumulativa alla luce solare, al pari di altre misure, ottenute tramite intervista, di esposizioni di intensità variabile e ripetute in un lungo arco temporale, può avere un certo grado di imprecisione ed essere soggetta a *recall bias*.[36] Nel nostro studio i soggetti di controllo erano prevalentemente coniugi o partner dei casi. Questo tipo di selezione implica un *matching* individuale per le caratteristiche comportamentali, ambientali e socio-economiche che possono essere influenzate dalla relazione tra i casi e i controlli.[37] La possibilità di un *overmatching* rispetto alle abitudini di esposizione solare può aver contribuito all'assenza di una associazione con il rischio di MC. Inoltre, i partecipanti allo studio provenivano tutti dalla stessa area geografica dove la maggior parte dei soggetti aveva vissuto per tutta la vita. Tutti questi fattori possono aver contribuito all'assenza di una differenza dell'esposizione solare tra casi e controlli.
I soggetti che hanno riportato l'uso di farmaci a base di glucocorticoidi nei 5 anni precedenti allo studio avevano un rischio ridotto del 50% di sviluppare MC.[30] In questi soggetti la protezione conferita dall'uso di glucocorticoidi era proporzionale alla durata del trattamento. La via di somministrazione (topica o sistemica) o il tipo di malattia (della cute o di altri organi) per la quale la terapia era stata effettuata non erano invece significativamente associati al rischio di MC.[30]
Un recente studio di coorte ha riportato un rischio aumentato per MC in soggetti con esposizione professionale a solventi.[38] Nel nostro studio 29 casi e 27 controlli hanno riferito una pregressa esposizione a solventi (OR: 1,1; IC 95%: 0,5-2,2, controllato per sesso, età, presenza di NA, tendenza all'abbronzatura e colore della cute e degli occhi). Nessuna associazione con il rischio di MC è stata rilevata anche per altre esposizioni professionali, quali quelle connesse alle attività di asfaltatura di strade, di bitumatura e catramatura di tetti e balconi, di produzione di bitumi o conglomerati bituminosi, di saldatura, di lavoro in fonderie o nell'industria metalmeccanica.
Una strategia di selezione del modello di regressione logistica è stata utilizzata per individuare i fattori di rischio maggiormente predittivi dell'insorgenza di MC. Le variabili più fortemente associate al MC sono risultate essere la presenza di NA, il colore della cute, la tendenza all'abbronzatura e il colore degli occhi. Questi fattori di rischio possono essere particolarmente rilevanti per la identificazione di soggetti ad alto rischio in questa popolazione mediterranea. Nel nostro studio la combinazione di presenza di NA, cute di colore chiaro, bassa tendenza alla abbronzatura ed occhi chiari era associato a un OR per MC pari a 98,5 (IC 95%: 23,8-406,9), come mostrato in figura 1. Precedenti indagini hanno tentato di selezionare i più importanti determinanti per lo sviluppo di MC e hanno esaminato l'influenza delle loro combinazioni sul rischio della neoplasia.[39,40] E' da notare che questi studi, condotti su popolazioni con carnagione più chiara, hanno indicato fattori di rischio differenti da quelli da noi identificati. I nostri risultati sono basati su un piccolo numero di soggetti, ma sono comunque fortemente esemplificativi della severità del rischio dovuto alla combinazione di questi fattori. Soggetti a forte rischio per MC potrebbero comunque essere individuati anche senza necessità di formulare una diagnosi di NA, che può essere difficoltosa senza una notevole esperienza specifica. Infatti, in base ai nostri risultati, un soggetto con scar-

		Casi	Controlli	OR†	(IC 95%)†
DRC*	Tendenza alla abbronzatura				
bassa	bassa	26	4	8,6‡	(2,7 - 27,5)
alta	bassa	19	14	1,5	(0,6 - 3,5)
bassa	media/alta	35	68	0,6	(0,3 - 1,1)
alta	media/alta	48	55	1,0	-
DRC*	NA				
bassa	+	23	7	6,7§	(2,4 - 18,6)
alta	+	23	14	2,9	(1,2 - 6,7)
bassa	-	17	47	0,6	(0,2 - 1,3)
alta	-	27	49	1,0	-

*Capacità di riparazione del DNA superiore o inferiore alla mediana dei controlli (18,4), dopo irradiazione plasmidica di 350 J/m². †OR e intervalli di confidenza controllati per età, sesso, vitalità cellulare e tempo di conservazione dei campioni tramite analisi logistica multivariata. ‡Likelihood-ratio test per l'interazione tra DRC e tendenza alla abbronzatura: p=0,001. §Likelihood-ratio test per l'interazione tra DRC e presenza di NA: p=0,04. Da Landi et al.[31]

Tabella 2. Rischio di melanoma cutaneo e capacità di riparazione del DNA (DRC), per categorie di tendenza all'abbronzatura dopo esposizione solare prolungata o presenza di nevi atipici (NA).

Table 2. Risk of cutaneous malignant melanoma and DNA repair capacity (DRC), by tanning ability after prolonged sun exposure or presence of dysplastic/atypical nevi (NA).

sa tendenza all'abbronzatura e con occhi e cute di colore chiaro avrebbe già un rischio di MC aumentato di circa 25 volte,[29] come si può notare nella prima metà del grafico riportato in figura 1.

Viste le lesioni che la luce solare provoca sul DNA, abbiamo ipotizzato che soggetti con una capacità di riparare il DNA ridotta o poco inducibile dalla luce solare potessero avere un rischio aumentato di MC. Abbiamo misurato la capacità di riparazione del DNA (DRC) in linfociti periferici criopreservati utilizzando la tecnica di *Host Cell Reactivation* (HCR).[41] L'HCR è un test funzionale che misura la capacità globale di riparazione nei linfociti dei soggetti piuttosto che una specifica funzione enzimatica coinvolta nelle attività di rimozione delle lesioni del DNA. DNA plasmidico contenente un gene reporter (cloramfenicolo-acetiltransferasi-CAT) viene irradiato con UV di lunghezza d'onda pari a 254 nm alla dose di 350 o 700 J/m^2. I linfociti di ciascun soggetto sono quindi incubati per 72 ore con fitoemoagglutinina e successivamente transfettati con DNA plasmidico danneggiato dalla irradiazione o non irradiato. La DRC è calcolata come percentuale di riattivazione dell'attività dell'enzima CAT. Questa percentuale è ottenuta dal rapporto dell'attività di CAT nei linfociti contenenti il DNA plasmidico irradiato e nei linfociti contenenti DNA plasmidico non irradiato (attività di base=100%). Rispetto ad altri test disponibili, questa metodica ha il vantaggio di essere basata sulla riparazione delle lesioni indotte su DNA plasmidico, mentre la cellula ospite rimane intatta.[42] Il test impiega come agente mutageno la luce UV, misurando verosimilmente l'attività degli stessi processi di riparazione interessati in seguito a esposizione solare. Il test ha mostrato una variabilità non trascurabile in misure ripetute.[31] La riproducibilità del test è peggiore quando la attività di base dell'enzima CAT è bassa. Per tale motivo 51 casi (27,9%) e 34 controlli (19,0%) con attività di base di CAT inferiore a 1.000 cpm sono stati esclusi dalle analisi riguardanti la DRC.

In generale, la capacità di riparare le lesioni del DNA non è risultata associata al rischio di MC.[31] I soggetti con DRC inferiore alla mediana dei controlli (18,4 %) hanno mostrato un OR: 0,9 (IC 95%: 0,5-1,4) nelle analisi controllate per età e sesso e un OR: 1,0 (IC 95%: 0,5-2,0) nelle analisi controllate per età, sesso, vitalità cellulare, tempo di conservazione dei campioni biologici, presenza di NA, tendenza all'abbronzatura e colore degli occhi e della cute. Ma i soggetti che, oltre a una ridotta capacità di riparare il DNA, presentavano anche altri fattori di rischio hanno mostrato un rischio di MC notevolmente elevato (tabella 2). I soggetti con bassa tendenza all'abbronzatura e DRC inferiore alla mediana dei controlli hanno mostrato, infatti, un OR: 8,6 (IC 95%: 2,7-27,5) (tabella 2) se confrontati con soggetti con maggiore tendenza alla abbronzatura e DRC più elevata (test per interazione tra DRC e tendenza alla abbronzatura: p=0,001). I soggetti con bassa tendenza all'abbronzatura sono particolarmente sensibili agli effetti della luce ultravioletta. Nella cute umana sono presenti due tipi distinti di melanina: la feomelanina, di colore rosso-giallastro e la eumelanina, di colore marrone scuro-nero. Il rapporto tra i due tipi di melanina è variabile.[43] Alti livelli di eumelanina sono stati associati a bassa sensibilità cutanea alla luce solare.[43,44] La feomelanina ha minore capacità di proteggere la cute dal danneggiamento causato dalla luce solare[45] e può generare radicali liberi in risposta alle radiazioni UV.[46] Per questo motivo i soggetti con bassa tendenza all'abbronzatura possono essere ad alto rischio di MC, in particolare se l'alto livello di danno del DNA che consegue all'esposizione a UV in questi soggetti non è efficacemente riparato.

I NA sono un fattore di rischio e possono essere considerati precursori del MC. In individui con NA, bassi livelli di riparazione del DNA potrebbero causare una alta frequenza di mutazioni con conseguente trasformazione maligna. I soggetti con NA e bassa DRC avevano, infatti, un OR per MC di 6,7 (IC 95%: 2,4-18,6) (tabella 2) rispetto a soggetti senza NA e con alta DRC. I soggetti con NA, ma con elevata DRC avevano un rischio più basso (OR: 2,9; IC 95%: 1,2-6,7, test per l'interazione tra DRC e NA: p=0,04).[31]

Questi risultati potrebbero essere ancora più rilevanti in popolazioni dove la scarsa tendenza all'abbronzatura e la presenza di NA sono più frequenti, ma hanno bisogno di essere confermati in studi condotti su campioni di popolazione più numerosi e con diverse abitudini di esposizione solare e sensibilità agli UV.

Una volta identificati i fattori di rischio più importanti per lo sviluppo del MC abbiamo voluto indagare quali fossero i fattori maggiormente associati alla progressione o all'aggressività della neoplasia. Vista l'impossibilità di studiare la progressione della neoplasia con un follow up delle lesioni nei singoli soggetti, abbiamo condotto un'analisi caso-caso per determinare quali fossero i fattori di rischio maggiormente presenti nei soggetti diagnosticati con MC più profondo e in stadio più avanzato, rispetto ai soggetti con MC in stadio precoce.[29] I pazienti giunti all'intervento chirurgico con uno spessore della lesione di MC superiore a quello mediano (0,9 mm) erano caratterizzati da una maggiore frequenza di colore chiaro della cute, di bassa tendenza alla abbronzatura e di pregresse ustioni solari. Abbiamo ipotizzato che questi soggetti non fossero sufficientemente consapevoli del loro rischio di sviluppare un MC e quindi siano arrivati all'attenzione di un dermatologo quando ormai le lesioni erano in stadio avanzato. All'opposto i soggetti con NA e con un alto numero di nevi comuni hanno mostrato un'associazione inversa, sebbene non significativa, con lo spessore del MC, che potrebbe essere il risultato di uno stato di vigilanza che è già presente nei soggetti portatori di nevi. Allo stesso modo un alto numero di ore di esposizione solare in vacanza, specialmente in età giovanile, è risultato inversamente associato allo spessore del MC.[29] L'attività di riparazione del DNA

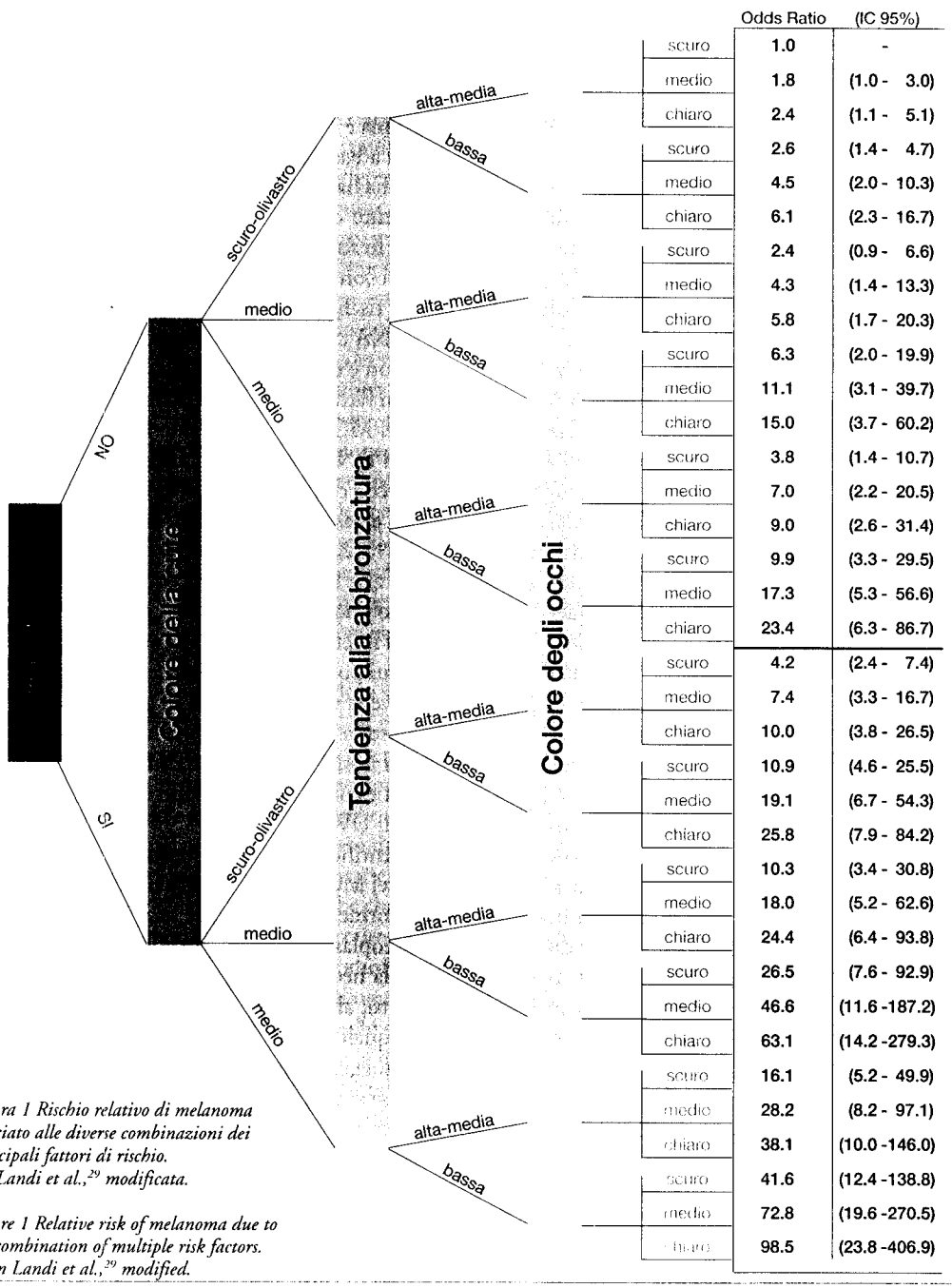

Figura 1 Rischio relativo di melanoma associato alle diverse combinazioni dei principali fattori di rischio. Da Landi et al.,[29] modificata.

Figure 1 Relative risk of melanoma due to the combination of multiple risk factors. From Landi et al.,[29] modified.

non era invece significativamente associata allo spessore della lesione (OR: 0,6; IC 95%: 0,2-1,3 per spessore superiore a 0,9 mm in soggetti con DRC al di sotto della mediana dei controlli, controllato per età, sesso, tempo di conservazione dei campioni biologici e vitalità cellulare).

In conclusione, lo studio caso-controllo da noi condotto ha permesso di valutare molteplici fattori di rischio per l'insorgenza di MC in soggetti appartenenti a una popolazione mediterranea. Tra i fattori correlati con la pigmentazione individuale, la presenza di NA, il colore della cute, la tendenza all'abbronzatura e il colore degli occhi sono risultati quelli maggiormente predittivi del rischio di MC. Due dei fattori di rischio più importanti per il MC, la tendenza all'abbronzatura e la presenza di NA, hanno mostrato un'interazione con la capacità di riparazione del DNA nel determinare il rischio di MC. L'identificazione nella popolazione generale dei soggetti a rischio di sviluppare il MC è di fondamentale importanza per la pianificazione di campagne educative e per

l'attivazione di programmi di screening e ci auguriamo che il nostro studio possa contribuire alla prevenzione di questo tumore caratterizzato da una così alta invasività.

Conflitti di interesse: nessuno

Ringraziamenti Il presente articolo rappresenta una sintesi del lavoro di tesi del dottor Andrea Baccarelli per il Master in epidemiologia promosso dall'Associazione italiana di epidemiologia in collaborazione con la Fondazione ISI (Istituto per l'interscambio scientifico). Un ringraziamento vivissimo a tutti i docenti, i tutori e i partecipanti al biennio 1999/2000 del Master. Un ringraziamento particolare a Pier Alberto Bertazzi, a Annibale Biggeri e a Franco Merletti che con i loro preziosi suggerimenti hanno dato un apporto significativo al lavoro di tesi.

Bibliografia

1. Serraino D, Fratino L, Gianni W *et al.* Epidemiological aspects of cutaneous malignant melanoma, *Oncol Rep* 1998; 5: 905-09.
2. Gilchrest BA, Eller MS, Geller AC, Yaar M. The pathogenesis of melanoma induced by ultraviolet radiation, *N Engl J Med* 1999; 340: 1341-48.
3. Ferlay J, Bray S, Pisani P, Parkin DM. *GLOBOCAN 2000: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, Version 1.0.* Lyon, IARCPress. IARC CancerBase No.5, 2001.
4. Muir CS, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan SL. *Cancer incidence in five continents.* Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1987.
5. Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, Gao YT, Ferlay J, Powell J. *Cancer incidence in five continents.* Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1992.
6. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Young J. *Cancer Incidence in five Continents.* Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1997.
7. Zanetti R, Crosignani P. *Il cancro in Italia. I dati di incidenza dei registri tumori 1983-1987.* Torino, Lega italiana per la lotta contro i tumori, 1992.
8. Zanetti R, Crosignani P, Rosso S. *Il cancro in Italia. I dati di incidenza dei Registri Tumori, vol. 2: 1988-1992.* Roma, Il Pensiero Scientifico, 1997.
9. Vinceti M, Bergomi M, Borciani N, Serra L, Vivoli G. Rising melanoma incidence in an Italian community from 1986 to 1997 *Melanoma Res* 1999; 9: 97-103.
10. Langley RG, Sober AJ. A clinical review of the evidence for the role of ultraviolet radiation in the etiology of cutaneous melanoma, *Cancer Invest* 1997; 15: 561-67.
11. Black HS, deGruijl FR, Forbes PD *et al.* Photocarcinogenesis: an overview, *J Photochem Photobiol B* 1997; 40: 29-47.
12. Bohr VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability, *Carcinogenesis* 1995; 16: 2885-92.
13. Lehmann AR. Nucleotide excision repair and the link with transcription, *Trends Biochem Sci* 1995; 20: 402-05.
14. Kraemer KH, Lee MM, Andrews AD, Lambert WC. The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer. The xeroderma pigmentosum paradigm, *Arch Dermatol* 1994; 130: 1018-21.
15. Kraemer KH. Sunlight and skin cancer: another link revealed, *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 11-14.
16. Tucker MA, Halpern A, Holly EA *et al.* Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma, *JAMA* 1997; 277: 1439-44.
17. Bliss JM, Ford D, Swerdlow AJ *et al.* Risk of cutaneous melanoma associated with pigmentation characteristics and freckling: systematic overview of 10 case-control studies. The International Melanoma Analysis Group (IMAGE), *Int J Cancer* 1995; 62: 367-76.
18. Greene MA, Fraumeni JF Jr. The hereditary variant of malignant melanoma. In: Clark WH Jr, Goldman LI, Mastrangelo LJ, eds, *Human malignant melanoma.* New York, Grune and Stratton, 1979. 139-66.
19. Goldstein AM, Tucker MA. Genetic epidemiology of familial melanoma, *Dermatol Clin* 1995; 13: 605-12.
20. Calista D, Goldstein AM, Landi MT. Melanoma familial aggregation in northeastern Italy, *J Invest Dermatol* 2000; 115: 764-65.
21. Carli P, Biggeri A, Giannotti B. Malignant melanoma in Italy: risks associated with common and clinically atypical melanocytic nevi, *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 734-39.
22. Cristofolini M, Franceschi S, Tasin L *et al.* Risk factors for cutaneous malignant melanoma in a northern Italian population, *Int J Cancer* 1987; 39: 150-54.
23. Naldi L, Lorenzo IG, Parazzini F, Gallus S, La Vecchia C. Pigmentary traits, modalities of sun reaction, history of sunburns, and melanocytic nevi as risk factors for cutaneous malignant melanoma in the Italian population: results of a collaborative case-control study, *Cancer* 2000; 88: 2703-10.
24. Zanetti R, Rosso S, Colonna S, Martina G, Paudice A. Studio caso-controllo sul melanoma maligno cutaneo in provincia di Torino, *G Ital Dermatol Venereol* 1988; 123: 461-68.
25. Rodenas JM, Delgado-Rodriguez M, Herranz MT, Tercedor J, Serrano S. Sun exposure, pigmentary traits, and risk of cutaneous malignant melanoma: a case-control study in a Mediterranean population, *Cancer Causes Control* 1996; 7: 275-83.
26. Rosso S, Zanetti R, Pippione M, Sancho-Garnier H. Parallel risk assessment of melanoma and basal cell carcinoma: skin characteristics and sun exposure, *Melanoma Res* 1998; 8: 573-83.
27. Espinosa Arranz J, Sanchez Hernandez JJ, Bravo Fernandez P *et al.* Cutaneous malignant melanoma and sun exposure in Spain, *Melanoma Res* 1999; 9: 199-205.
28. Zanetti R, Gafa L, Franceschi S, Pippione M, Rosso S. Stima della proporzione di tumori cutanei attribuibili all'esposizione solare in tre popolazioni italiane [Estimate of the proportion of skin tumors attributable to sun exposure in three Italian populations], *Epidemiol Prev* 1999; 23: 416-22.
29. Landi MT, Baccarelli A, Calista D, Pesatori A, Fears T, Tucker MA, Landi G. Combined risk factors for melanoma in a Mediterranean population, *Br J Cancer* 2001; 85: 1304-10.
30. Landi MT, Baccarelli A, Calista D, Fears TR, Landi G. Glucocorticoid use and melanoma risk, *Int J Cancer* 2001; 94: 302-03.
31. Landi MT, Baccarelli A, Tarone RE, Pesatori A, Tucker MA, Hedayati M, Grossman L. DNA repair, dysplastic nevi, and sunlight sensitivity in the development of cutaneous malignant melanoma, *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 94-101.
32. English JS, Swerdlow AJ, MacKie RM, O'Doherty CJ, Hunter JA, Clark J, Hole DJ. Site-specific melanocytic naevus counts as predictors of whole body naevi, *Br J Dermatol* 1988; 118: 641-44.
33. Hartge P, Holly EA, Halpern A, Sagebiel R, Guerry D, Elder D, Clark W, Hanson L, Harrison C, Tarone R. Recognition and classification of clinically dysplastic nevi from photographs: a study of interobserver variation, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4: 37-40.
34. Landi MT, Calista D, Landi G *et al.* Clinical characteristics of 20 Italian melanoma-prone families, *Arch Dermatol* 1999; 135: 1554-55.
35. Armstrong BK, English DR. Cutaneous malignant melanoma. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF Jr, eds, *Cancer epidemiology and prevention.* New York, Oxford University Press, 1996. 1282-12.
36. Cockburn M, Hamilton A, Mack T. Recall bias in self-reported melanoma risk factors, *Am J Epidemiol* 2001; 153: 1021-26.
37. Rothman JK, Greenland S. Case-control studies. In: Rothman JK, Greenland S, eds, *Modern Epidemiology.* Philadelphia, Lippincot-Raven, 1998. 93-114.
38. Wennborg H, Yuen J, Nise G, Sasco AJ, Vainio H, Gustavsson P. Cancer incidence and work place exposure among Swedish biomedical research personnel, *Int Arch Occup Environ Health* 2001; 74: 558-64.
39. MacKie RM, Freudenberger T, Aitchison TC. Personal risk-factor chart for cutaneous melanoma, *Lancet* 1989; 2: 487-90.
40. Garbe C, Buttner P, Weiss J *et al.* Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society, *J Invest Dermatol* 1994; 102: 695-99.
41. Athas WF, Hedayati MA, Matanoski GM, Farmer ER, Grossman L. Development and field-test validation of an assay for DNA repair in circulating human lymphocytes, *Cancer Res* 1991; 51: 5786-93.
42. Berwick M, Vineis P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review, *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 874-97.
43. Zanetti R, Prota G, Napolitano A *et al.* Development of an integrated method of skin phenotype measurement using the melanins, *Melanoma Res* 2001; 11: 551-57.
44. Thody AJ, Higgins EM, Wakamatsu K, Ito S, Burchill SA, Marks JM. Pheomelanin as well as eumelanin is present in human epidermis, *J Invest Dermatol* 1991; 97: 340-44.
45. Menon IA, Persad S, Ranadive NS, Haberman HF. Effects of ultraviolet-visible irradiation in the presence of melanin isolated from human black or red hair upon Ehrlich ascites carcinoma cells, *Cancer Res* 1983; 43: 3165-69.
46. Hill HZ, Li W, Xin P, Mitchell DL. Melanin: a two edged sword?, *Pigment Cell Res* 1997; 10: 158-61.