

Predisposición genética en el melanoma cutáneo

José A. Avilés y Pablo Lázaro

Servicio de Dermatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

Resumen.—La incidencia del melanoma cutáneo ha aumentado en todo el mundo durante los últimos 20 años. La investigación sobre los factores de riesgo potenciales, tanto ambientales como genéticos, nos ha conducido a algunas nuevas e interesantes conclusiones. La radiación ultravioleta es claramente el factor de riesgo ambiental principal para el melanoma, pero su relación es compleja y controvertida. Respecto a los factores genéticos, el descubrimiento de dos clases de genes ha sido un gran avance con más entendimiento de biología del melanocito. *CDKN2A* (p16) es el prototipo de gen de alta penetrancia y baja prevalencia relacionado con el melanoma. Este gen ha sido estudiado en algunas familias con varios miembros diagnosticados de melanoma. En la población general con melanoma no familiar, los genes de baja penetrancia pero alta prevalencia como el *MC1R* parecen ser más interesantes. Los estudios sobre el gen *MC1R* no sólo han mostrado su importancia en la pigmentación de la piel y el pelo, sino también en el desarrollo de melanoma. Los estudios funcionales sobre *CDKN2A* y *MC1R* nos han llevado a nuevas conclusiones importantes. El análisis de los datos procedentes de estudios familiares, gemelos y casos-control, con la colaboración de varios países nos llevará a nuevos descubrimientos. Para la prevención primaria y secundaria de este tumor, debemos fomentar la realización de campañas de salud públicas sobre la exposición al sol y el reconocimiento de individuos con alto riesgo.

Palabras clave: melanoma, genética, prevalencia.

GENETIC PREDISPOSITION IN CUTANEOUS MELANOMA

Abstract.—The incidence of cutaneous melanoma has increased worldwide in the last 20 years. Research on potential risk factors, both environmental and genetic, has led us to some new and interesting conclusions. Ultraviolet radiation is clearly the main environmental risk factor for melanoma, but its relationship is complex and controversial. With regard to genetic factors, the discovery of two types of genes was a great advance in further understanding the biology of the melanocyte. *CDKN2A* (p16) is the prototype of the high-penetrance, low-prevalence gene related to melanoma. This gene has been studied in some families in which several members have been diagnosed with melanoma. In the general population with non-familial melanoma, low-penetrance, high-prevalence genes such as *MC1R* seem to be more interesting. Studies on the *MC1R* gene have not only shown its importance in skin and hair pigmentation, but also in the development of melanoma. Functional studies on *CDKN2A* and *MC1R* have led us to new and important conclusions. The analysis of data from studies on families, twins and control cases, with the collaboration of several countries, will lead us to new discoveries. For the primary and secondary prevention of this tumor, we must promote public health campaigns on the dangers of sun exposure and the identification of individuals at high risk.

Key words: melanoma, genetics, prevalence.

INTRODUCCIÓN

La tendencia de ciertas neoplasias a manifestarse en distintos miembros de la misma familia es uno de los campos de trabajo más atractivos y esperanzadores de la genética molecular. La existencia del cáncer familiar nos indica que existen genes defectuosos que se transmiten de generación en generación. Aquellos individuos que hereden estos alelos defectuosos en algún locus (tabla 1) o región cromosómica asociada específicamente con el desarrollo de un tumor tendrán una susceptibilidad aumentada para desarrollar cáncer. Por tanto, la identificación de estos genes nos ayudará a conocer mejor la etiopatogenia del cáncer y poder diagnosticarlo en estadios cada vez más iniciales.

Correspondencia:
José A. Avilés. Servicio de Dermatología.
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
Dr. Esquerdo, 46. 28007 Madrid. España.
dermaviles@gmail.com

Recibido el 10 de noviembre de 2005.
Aceptado el 24 de marzo de 2006.

El melanoma cutáneo representa el 10 % de las neoplasias cutáneas, y es responsable de más del 90 % de las muertes por cáncer de piel. Su incidencia sigue aumentando de forma global en todo el mundo¹, sobre todo entre sujetos de raza blanca expuesta a dosis intensas de radiación solar. Su prevalencia es máxima entre la población australiana caucásica. Se ha estimado que uno de cada 20-30 australianos de raza blanca desarrollarán un melanoma a lo largo de su vida².

La susceptibilidad para desarrollar un melanoma cutáneo es muy variable y depende de varios factores. Por un lado, existen familias con una gran susceptibilidad y múltiples casos de melanoma intrafamiliares en todo el mundo. Por otro, las diferentes tasas de prevalencia que existen entre los diferentes países de todo el mundo se cree que son debidas a los diferentes grados de exposición solar y a los diferentes fototipos cutáneos.

Ni la mortalidad ni la incidencia del melanoma en estadios avanzados han disminuido. La necesidad de realizar un diagnóstico precoz, así como una vigilancia especial de la población con mayor susceptibilidad para desarrollar un melanoma, han potenciado la

TABLA 1. GLOSARIO DE TÉRMINOS GENÉTICOS

Alelo. Las diferentes variantes que se encuentran para un determinado gen o *locus* génico en un cromosoma. Determina el fenotipo de un individuo, que presenta 2 alelos, que provienen uno de la madre y otro del padre

Base. Cada uno de los nucleótidos que constituyen el ADN

Codón. Unidad básica codificante de ADN compuesta por 3 nucleótidos, que codifican para un determinado aminoácido siguiendo el código genético

Delección. Pérdida de ADN de un cromosoma

Exón. Secuencias codificantes de un gen, que están presentes en el ARNm maduro

Fenotipo. Características observables de una célula o un organismo que son el resultado de la expresión de un genotipo celular

Gen. La unidad hereditaria que ocupa un *locus* específico en un cromosoma. Contiene las secuencias codificantes del ADN, los intrones y las secuencias reguladoras, normalmente de un único ARNm

Genotipo. Conjunto de los genes existentes en cada uno de los núcleos celulares de los individuos pertenecientes a una determinada especie vegetal o animal

Intrón. Secuencias no codificantes presentes en el ARNm no maduro, que separan los exones, y que son eliminadas en la maduración de éste. Presentan, sin embargo, secuencias importantes para la maduración del ARN

Locus (pl. loci). Es la región en un cromosoma donde se localiza un gen. Incluye la región promotora y todas las secuencias exónicas e intrónicas de éste

Mutación. Modificación hereditaria del material genético espontánea o inducida

Nucleótido. Molécula compuesta de una base nitrogenada (adenina, guanina, citosina o timina para el ADN y adenina, guanina, citosina o uracilo para el ARN), un azúcar de 5 carbonos (ribosa o desoxirribosa) y un grupo fosfato. Son los precursores de los ácidos nucleicos

Penetrancia. Proporción de individuos portadores de un genotipo que muestran el fenotipo esperado, en unas condiciones ambientales concretas. Es decir la relación entre el número de individuos que presentan una enfermedad con el número de individuos que deberían presentarla conforme a su genotipo

Polimorfismo. Existencia en una población de dos o más alelos de un gen, donde la frecuencia del alelo menos frecuente es mayor (> 1%) de la que se puede explicar por una mutación recurrente

Translocación. Transferencia de un fragmento de un cromosoma a otro, y también el desplazamiento del ARNm por el ribosoma durante la traducción

ARNm: ARN mensajero.

aparición de trabajos de investigación que tratan de explicar el papel que desempeñan tanto los factores ambientales como los factores genéticos en la predisposición individual y familiar del melanoma.

Para una mejor comprensión de la predisposición genética que otorgan algunas mutaciones, como las del gen *CDKN2A*, o variantes alélicas, como el *MC1R*, a continuación se comentan los factores etiopatogénicos conocidos sobre el melanoma, así como el papel de algunos de estos genes en la fisiología del sistema pigmentario.

ETIOPATOGENIA DEL MELANOMA CUTÁNEO

Se ha postulado que el melanoma, como la mayoría de las neoplasias, tiene una etiopatogenia multifactorial que precisa de la interacción de factores genéticos y ambientales. Estos factores aparecen en la tabla 2.

Se han ensayado diferentes modelos experimentales de inducción de melanomas en animales. Los resultados más satisfactorios se han obtenido con peces híbridos del grupo *Xyphophorus*³. Sin embargo, ningún modelo animal ha permitido imitar fielmente al melanoma humano.

Clásicamente se ha asociado un mayor riesgo de melanoma a individuos de piel clara. Sin embargo, la clasificación de los fototipos cutáneos establecida por Fitzpatrick en 1988⁴ no deja de ser un parámetro basado en una observación subjetiva. Debido a los nuevos conocimientos alcanzados en biología molecular y genética sobre la pigmentación cutánea humana, sería más correcto hablar de quimiofototipo⁵ en función de las propiedades químicas de la melanina, y de genofototipo⁶, según los genes determinantes del color de la piel, cabello y ojos, a la hora de establecer el riesgo individual para el cáncer cutáneo.

FISIOLOGÍA DEL SISTEMA PIGMENTARIO

El mayor determinante del color de la piel y los anejos cutáneos es la actividad secretora de melanina por parte de los melanocitos localizados en la capa basal de la epidermis y el bulbo de los folículos pilosos. Las melaninas son unos pigmentos especializados que no pertenecen a ninguna clase bioquímica conocida, sino que constituyen un conjunto de moléculas afines con diferentes grados de polimerización y oxidación, que permiten clasificarlas en dos grandes grupos: eumelaninas y feomelaninas (tabla 3).

La síntesis de la melanina consta de una serie de reacciones enzimáticas que tienen lugar en el interior de unas organelas especializadas llamadas melanosomas. La tirosinasa, la TRP-1 y la TRP-2 son las enzimas más importantes entre las que intervienen en la melanogénesis. La tirosinasa transforma la tirosina en 3-4 DOPA, y posteriormente, convierte ésta en dopa-

quinona. A continuación, la TRP-1 y TRP-2 intervienen en la síntesis de eumelanina, mientras que la feomelanina se obtiene mediante la incorporación de derivados sulfatados por una vía anabólica alternativa.

La biosíntesis de los melanosomas es un proceso complejo que tiene lugar cerca del núcleo del melanocito, y en el que intervienen determinadas proteínas como Pmel-17 o AP-1 y AP-37. A medida que se va produciendo su maduración, los melanosomas son transportados hacia el extremo distal de las dendritas melanocíticas, desde donde serán transferidos a los queratinocitos⁸.

La pigmentación melánica está predeterminada genéticamente, y es regulada tanto por la radiación ultravioleta (UV) como por diversos factores químicos. La radiación UV, además de estimular un aumento en el número de melanocitos y sus dendritas, es el principal estímulo para la melanogénesis. Actúa tanto de forma directa sobre los melanocitos, aumentando la expresión y la actividad de la tirosinasa, como de forma indirecta, mediante la inducción de la secreción de factores activadores de la melanogénesis por parte de los queratinocitos y los melanocitos. Estos activadores de la melanogénesis son la hormona estimulante del melanocito alfa (MSH- α), la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y el óxido nítrico (NO).

La MSH- α , al igual que la ACTH, son hormonas polipeptídicas derivadas de la división de la proopiomelanocortina (POMC). La MSH- α aumenta la melanogénesis estimulando la actividad de las enzimas tirosinasa, TRP-1 y TRP-2, mediante su unión a un receptor transmembrana expresado en la superficie de los queratinocitos, el receptor de la melanocortina-1 (MC1R en la literatura inglesa). En el ser humano, el fenotipo pelirrojo se asocia a ciertas variedades alélicas del receptor MC1R que implican una afinidad menor de este receptor por la MSH- α ⁹. Estos hallazgos sugieren que la MSH- α participaría en la melanogénesis humana favoreciendo la síntesis preferente de eumelanina frente a feomelanina¹⁰.

La síntesis de melanina en el ser humano, además de determinar la pigmentación cutánea constitutiva o color de piel, y la pigmentación facultativa o capacidad para broncearse, tiene un papel fotoprotector muy importante, sugerida por la baja incidencia de cáncer cutáneo y fotodermatitis en personas de piel oscura. La melanina actúa mediante dos mecanismos: de forma directa, como un filtro solar que difracta y/o refleja la radiación UV, a través de un fenómeno de reagrupamiento (*camping*) de los melanosomas al recibir la radiación UV, situándose por encima del ADN de los queratinocitos y melanocitos; y de forma indirecta, neutralizando los radicales libres y otras sustancias químicas producidas por los rayos UV. Sin embargo, la potencia fotoprotectora de la melanina es pequeña, estimándose similar a la de un factor de protección solar de 1,5-2, lo que supone una neutralización del 40-50 % de los rayos UV¹¹. Además, la feomelanina,

TABLA 2. FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL DESARROLLO DE MELANOMA

1. Color de piel o pigmentación constitutiva
2. Capacidad para pigmentarse correctamente o pigmentación facultativa
3. Factores ambientales (exposición a radiación ultravioleta)
4. Diferentes mutaciones genéticas implicadas en la patogenia del melanoma, individual o familiar, y que además se asocian a la presencia de múltiples nevos melanocíticos atípicos o a otros tumores viscerales

TABLA 3. PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS DIFERENTES TIPOS DE MELANINAS

Propiedades	Eumelaninas	Feomelaninas
<i>Melaninas</i>		
Color	Negro o marrón	Amarillo/anaranjado
Solubilidad	Insoluble	Soluble en bases
Unidad estructural	5,6-dihidroindol	1,4-benzotiacinil
Contenido en nitrógeno	6-9%	8-10%
Contenido en azufre	0-1%	9-12%
Precusores	Tirosina	Tirosina/cisteína
<i>Melanosomas</i>		
Forma	Helicoidal	Esférica
Estructura	Lamelar o filamentosa	Microvesicular

tras ser estimulada por la radiación UV, puede generar radicales libres con efectos mutágenos y daño tisular¹².

FACTORES AMBIENTALES

En 1952, McGovern¹³ observó que el melanoma era más frecuente en zonas fotoexpuestas, sugiriendo el papel de la exposición solar como agente carcinogénico. La diferencia obvia en la incidencia anual de melanoma entre Australia (50/100.000 habitantes en Queensland) y Europa (10/100.000 habitantes en Gran Bretaña), así como diversos estudios epidemiológicos han confirmado esta observación¹⁴. La radiación UV favorecería tanto el inicio como la progresión del melanoma.

El riesgo de melanoma asociado a la radiación UV no parece depender por tanto de la cantidad total de radiación acumulada, sino de las exposiciones recibidas de forma intermitente o a una intensidad suficiente para producir quemaduras solares, especialmente cuando dichas quemaduras se producen en las primeras décadas de vida (fig. 1)¹⁵.



Fig. 1.—Paciente con múltiples lentigos solares en espalda como consecuencia de haberse «quemado» varias veces tras una exposición solar intensa. Con el número 1 se marca una lesión que correspondía con un melanoma de extensión superficial *in situ*. A lo largo de su vida, este paciente ha desarrollado 4 melanomas, y también refería antecedentes familiares de melanoma.

Sin embargo, la asociación entre melanoma y exposición solar es muy compleja. Aunque el fototipo cutáneo parece ser un factor muy importante en cuanto a la mayor probabilidad de aparición de melanoma, existen muchos casos de melanoma en sujetos de piel morena y/o gran facilidad para broncearse. Además, la exposición solar crónica de carácter ocupacional se ha propuesto incluso como un factor protector frente al melanoma¹⁵. Destacar que estudios de casos y controles, realizados en todo el mundo, para analizar el riesgo de melanoma atribuible a la exposición solar estival y la presencia de quemaduras solares, mostraron unos valores de riesgo relativo muy pequeños, por la que la exposición solar *per se* no parece ser un factor pronóstico fiable del riesgo de desarrollar melanoma^{16,17}.

Estos datos apuntan hacia la necesidad de estudiar la interacción entre los factores ambientales y predisposición genética de ciertos sujetos para comprender completamente el papel de la radiación UV en el melanoma.

GENES DE PREDISPOSICIÓN AL MELANOMA

El melanoma puede ser considerado como una enfermedad poligénica multifactorial. Las alteraciones genómicas subyacentes al desarrollo de melanoma

pertencen a dos grandes clases de genes: *a*) supresores de tumores, cuya función es evitar la transformación maligna de las células, y a la que pertenecen la mayoría de los genes relacionados con el melanoma, y *b*) los oncogenes propiamente dichos, cuya función es estimular la progresión tumoral.

Se han identificado genes de susceptibilidad para el melanoma *mayores*, cuyas determinadas mutaciones, caracterizadas por expresarse con una alta penetrancia, pero con baja prevalencia, se asocian a una gran susceptibilidad para desarrollar melanoma; y otros genes cuyas variedades o polimorfismos son muy frecuentes entre la población general, pero que se expresan con una baja penetrancia.

Genes de baja penetrancia

Existe un menor conocimiento y experiencia respecto a los genes de menor penetrancia de susceptibilidad frente al melanoma. Las mutaciones en estos genes se asociarían a riesgos menores para desarrollar melanoma, pero al detectarse con mayor frecuencia entre la población general, su determinación tendría lógicamente un impacto mayor en la sociedad en términos de prevención sanitaria y seguimiento de pacientes con riesgo.

Entre estos genes se encuentra el del receptor 1 de la melanocortina (*MC1R*). Este gen se localiza en el extremo telomérico del cromosoma 16q24.3, y codifica un receptor transmembrana acoplado a proteína G expresado por muchos tipos celulares, incluidos los melanocitos de la piel. *MC1R* es el receptor de péptidos sintetizados en la glándula pituitaria, derivados de la proopiomelanocortina, como la MSH- α y ACTH. Ambos se unen con la misma afinidad a *MC1R*, activando una adenilciclase que incrementa la producción intracelular de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Éste favorece la transcripción y traducción de tirosinasa, y de esta manera, la síntesis fotoprotectora de eumelanina y la proliferación melanocítica¹⁸.

La regulación de la melanogénesis también parece depender de factores paracrinos, como la proteína de señalización *agouti* (*ASP*)¹⁹, o antagonistas de *MC1R* como la endotelina 1²⁰.

Numerosos polimorfismos del gen *MC1R* se han aislado en la población mundial, sobre todo en raza caucásica²¹⁻²³. Ante tal diversidad, se estableció por consenso entre los resultados de varios grupos de trabajo cuál era la variedad o alelo más frecuente o *común* (*wild type*), que recientemente se ha secuenciado completamente y está presente en principio en la población asiática y africana^{21,22}. Aproximadamente 30 variantes alélicas han sido descritas hasta ahora, nueve de las cuales han demostrado ser variantes con pérdida de función²⁴. Algunas de estas variantes (Val60Leu, Ile40Thr, Arg142His, Arg151Cys, Arg162Pro, Arg160Trp, Asp294His) son incapaces de sintetizar AMPc con la misma eficacia de la va-

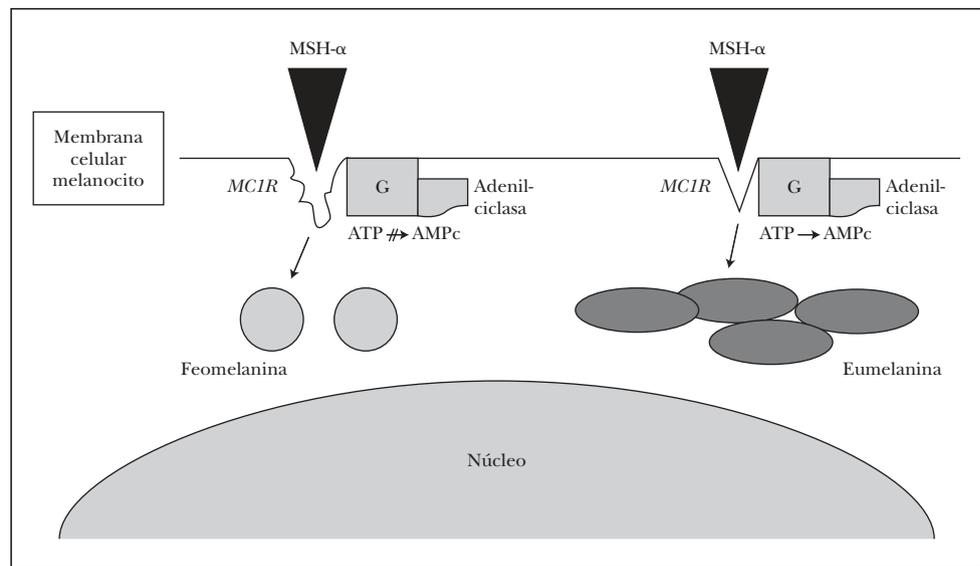


Fig. 2.—Esquema de la melanogénesis. La unión de MSH- α al receptor de la melanocortina-1 (*MC1R*) desencadena la síntesis de eumelanina en condiciones normales mediante la estimulación de la tirosinasa vía AMPc. Alteraciones estructurales o funcionales de *MC1R* dan origen a la síntesis de feomelanina.

riante común o *wild type* de *MC1R* en respuesta a la estimulación de MSH- α ²⁵, mientras que otras variantes (Val122Met) demostraron una menor afinidad de unión con la MSH- α ²⁶. Estos sujetos tendrían una expresión supresora en la función fisiológica del *MC1R*, es decir, los melanocitos sintetizarían feomelanina en lugar de eumelanina (fig. 2).

Tres variantes alélicas de *MC1R* (Arg151Cys, Arg160Trp, Asp294His) se asocian claramente con la presencia de pelo rojo, piel clara, ausencia de capacidad para broncearse correctamente y una gran predisposición para desarrollar lentigos solares. Además, otros 7 alelos (Val60Leu, 86insA, Asp84Glu, Arg142His, Ile155-Thr, 537insC, His260Pro) pueden considerarse alelos asociados a este fenotipo de forma parcial o total²⁴. El conjunto de estas características, denominado fenotipo RHC (*red hair color*), constituye un factor de riesgo tanto para el melanoma como para el cáncer cutáneo no melanocítico, especialmente cuando se combina con factores de riesgo ambientales como la exposición de altas dosis de radiación UV.

Además, algunos trabajos señalan que algunos de estos polimorfismos de *MC1R* otorgarían una mayor susceptibilidad para el desarrollo de melanoma esporádico y cáncer cutáneo no melanoma de forma independiente a la presencia del fenotipo RHC^{21,23,27-29}. En 1996, Valverde et al²³ observaron que la variante Asp84Glu se asociaba a la presencia de melanoma de forma independiente al tipo de piel. Posteriormente, Palmer et al²⁷ estudiaron la relación entre las cinco variedades de *MC1R* más frecuentes en la población australiana analizando las encontradas en 460 individuos con melanoma familiar o esporádico y 399 controles. Encontraron una fuerte asociación entre los alelos Arg151Cys, Arg160Trp y Asp294His y el riesgo de melanoma. La presencia de uno o varios de estos alelos en un mismo sujeto tendría un efecto aditivo para el

desarrollo de melanoma: la presencia de uno de estos alelos otorgaría a un sujeto un riesgo relativo de 2,0 (intervalo de confianza del 95 % [IC 95 %]: 1,6-2,6), y con 2 alelos, el riesgo relativo sería de 4,1 (IC 95 %: 2,1-7,9). No pudo demostrarse la asociación con las variantes Val60Leu y Asp84Glu.

Curiosamente, esta asociación no existía en sujetos de piel clara, pero sí persistía la asociación entre estas variantes de *MC1R* y el desarrollo de melanoma en sujetos de fototipo oscuro de raza caucásica, por lo que concluyeron que estos polimorfismos del gen *MC1R* tienen un riesgo de susceptibilidad para el melanoma parcialmente independiente de su efecto en el color del pelo o la incapacidad para broncearse.

La mayoría de los estudios realizados posteriormente coincidieron en que los polimorfismos asociados con un mayor riesgo de melanoma son precisamente Arg151Cys, Arg160Trp y Asp294His^{28,29}.

Recientemente, Matchard et al³⁰ han estudiado el papel de las variantes de *MC1R* en la población francesa. Tras estudiar 108 pacientes con melanoma, incluyendo casos de melanoma familiar y esporádico, pero sin mutaciones en p16, y 105 controles, observaron una diferencia significativa ($p < 0,0001$) en cuanto a la presencia de variantes de *MC1R* hipofuncionantes entre casos (68 %) y controles (31 %). Las variantes con asociación significativa fueron Val60Leu, Arg151Cys y Arg160Trp. Este riesgo persistía tras estratificar los resultados según el fenotipo cutáneo, el color de pelo, la presencia de lentigos solares y los parámetros de exposición UV (tabla 4).

Box et al²¹ estudiaron el efecto derivado de la presencia de polimorfismos del gen *MC1R* en familias australianas portadoras de diferentes mutaciones en el gen *CDKN2A*²¹. La presencia de una variante alélica del *MC1R* aumentaba el riesgo de desarrollar un

TABLA 4. POLIMORFISMOS DE *MC1R* CON IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS CONOCIDAS EN LA ACTUALIDAD

Polimorfismo	Alteración de la síntesis de eumelanina	Fenotipo RHC	Riesgo de melanoma
Ile40Thr	+	+	
Val60Leu	+	+	++
Asp84Glu		+	+
86insA	+		
Val122Met	+		
Arg142His	+		
Arg151Cys	+	+++	+++
Ile155Thr		+	
Arg160Trp	+	+++	+++
Arg162Pro	+		
His260Pro		+	
Asp294His	+	+++	+++
537insC	+		

melanoma tanto en portadores de mutaciones de *CDKN2A* como en no portadores. El impacto sobre el riesgo de melanoma en los portadores de un alelo de *MC1R* y una mutación en *CDKN2A*, comparado con los portadores de una única mutación del *CDKN2A*, se reflejaba al aumentar la penetrancia para desarrollar un melanoma del 50 al 83 %, y un descenso en la edad media de diagnóstico del melanoma de 58,1 a 37,8 años.

A pesar de estos hallazgos, existen todavía muchas cuestiones por resolver en cuanto al papel del *MC1R* en la susceptibilidad al melanoma. En primer lugar, los estudios realizados hasta ahora se han llevado a cabo en población caucásica, generalmente del norte de Europa con fenotipo RHC, por lo que desconocemos la relación de las variedades de *MC1R* y melanoma en el resto de la población mundial. Por otro lado, para la mayoría de la comunidad científica no está claro que el riesgo de melanoma atribuible a las variantes de *MC1R* sea independiente de sus efectos sobre la pigmentación. Tampoco se ha estudiado el papel de *MC1R* en el melanoma familiar, salvo en familias australianas²⁷. Y finalmente, se desconoce el papel de *MC1R* en la interacción que tendría con la radiación UV.

Se han intentado aislar otros genes de baja penetrancia y alta prevalencia para el melanoma. El gen *XRCC3* codifica una proteína involucrada en la reparación de la doble cadena de ADN, así como en la reparación de fragmentación, translocación y delección cromosómica Winsey et al³¹ encontraron la presencia de un alelo T en el exón 7 del gen *XRCC3* que se asociaba significativamente con el desarrollo en una población de melanoma con alto riesgo de metástasis respecto a grupo control. Sin embargo, otros trabajos no han podido confirmar esta asociación^{32,33}.

Genes de alta penetrancia

La detección de estas mutaciones de alta penetrancia, pero con baja prevalencia estaría indicada especialmente en familias con varios miembros con melanoma. Sin embargo, estos genes tienen un papel muy pequeño en la mayoría de la población susceptible al melanoma.

El melanoma familiar se define como la presencia de 2 familiares de primer grado afectados de melanoma o de más de dos si son de primer o segundo grado. Esta definición de melanoma familiar, no obstante, no está consensuada hasta la fecha actual. De hecho, en la práctica diaria, en la mayoría de los centros sanitarios y/o de investigación se suele considerar a un paciente con antecedentes familiares de melanoma cuando refiere un único caso de melanoma en su familia, independientemente del grado de parentesco. Es de esperar que la generalización de los estudios de susceptibilidad genética en el melanoma cutáneo nos permita establecer una definición consensuada.

Se estima que entre el 5-10 % de los enfermos de melanoma tienen historia familiar de melanoma³⁴. Ford et al³⁵ realizaron un metaanálisis sobre 8 estudios de casos y controles, comprobando que el riesgo de padecer melanoma en la raza caucásica era 2,24 veces mayor si existía algún familiar de primer grado que había padecido un melanoma. El antecedente familiar de melanoma indica, por tanto, una susceptibilidad genética directa debido a una mutación o polimorfismo, o bien una mayor susceptibilidad a los efectos ambientales nocivos, con la radiación UV.

El primero y más importante de estos genes es el gen *CDKN2A* (*Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*), localizado en el cromosoma 9p21 por primera vez en 1994³⁶. Este *locus* tiene la particularidad de transcribir 2 proteínas de forma alternante (*alternative reading frames* o ARF). Por un lado es responsable de la codificación de p16, proteína de aproximadamente 16 kDa de peso molecular, que interviene en el control del ciclo y la apoptosis celular. El segundo producto de este *locus*, conocido como *p14ARF*, y cuyo papel se comenta más adelante con mayor detalle, regula el ciclo celular pero a través de una vía dependiente de p53.

La proteína p16 se une e inhibe competitivamente a las cinasas dependientes de ciclina (CDK) 4 y 6, por lo que también aparece en la literatura médica como INK4a (inhibidor de la cinasa 4.³) o p16^{ink4a}. De esta manera se impide la formación del complejo constituido por la unión de CDK4 y la ciclina D1, complejo necesario para la transición desde la fase G1 a la fase S del ciclo celular mediante la fosforilación e inactivación del producto del gen del retinoblastoma.

La frecuencia estimada de mutaciones en el gen de p16 en la población general es de 0,01 %³⁷. Las mutaciones puntuales o delecciones en el gen *p16*, tanto adquiridas como hereditarias, aumentan la probabilidad de que el potencial daño mutagénico producido en

el ADN escape al proceso de reparación antes de la división celular.

Se han descrito mutaciones del gen *p16/CDKN2A* asociadas tanto a casos de melanoma esporádico múltiple sin historia familiar³⁸ como en familias con múltiples casos de melanoma³⁹. En general, las mutaciones puntuales predominan en el melanoma familiar, mientras que las deleciones constituyen el mecanismo de inactivación más importante en el melanoma esporádico, así como hallarse con mayor frecuencia en los cultivos de células tumorales. Estudios en melanoma metastásico con frecuencia no presentan alteraciones en el gen de p16, por lo que estas mutaciones no parecen tener un papel relevante en la capacidad de metastatizar del melanoma⁴⁰, por lo que sería una insuficiente cantidad de p16 y, por tanto, una mala regulación del ciclo celular, la que empujaría a los melanocitos hacia una progresión tumoral⁴¹.

La expresión reducida de p16 en estudios de células de melanoma no cultivadas se ha asociado con un mayor riesgo de recidiva y peor pronóstico^{42,43}, así como unos niveles de Clark más avanzados y un mayor índice de proliferación celular⁴⁴. Otros estudios no han conseguido correlacionar el microestadio del melanoma con la expresión de p16⁴⁵.

Las mutaciones en p16 se transmiten de forma autosómica dominante. Alrededor del 25-40 % de las familias con melanoma familiar tienen mutaciones en este gen (tabla). La probabilidad de encontrar dicha mutación en un sujeto aumenta con un mayor número de familiares afectados de melanoma⁴⁶. Existen más de 500 familias con mutaciones en este gen identificadas en todo el mundo, lo que confiere a sus miembros un riesgo elevado de melanoma. Se han descrito más de 14 mutaciones diferentes, tanto en el exón 1 como en el exón 2 del *CDKN2A*, y varían según la región geográfica de las familias estudiadas. El grado de penetrancia de estas mutaciones para el desarrollo de melanoma ha sido estimado en 0,30 (IC 95 %: 0,12-0,62) a los 50 años de edad, y de 0,67 (IC 95 %: 0,31-0,96) a los 80 años de edad. También el grado de penetrancia de estas mutaciones es distinto en función del país de procedencia, existiendo una mayor probabilidad de desarrollar melanoma en Australia que en Estados Unidos o Europa⁴⁶. Estas variaciones en la penetrancia de p16 podrían ser debidas a la exposición ambiental o a otras mutaciones genéticas concomitantes. En España, Ruiz et al⁴⁷ observaron mutaciones en el 17 % de las familias con melanoma familiar estudiadas, pero no hallaron ningún caso de mutación entre los pacientes de melanoma múltiple no familiar y enfermos con melanoma y otras neoplasias.

En cuanto a la relación entre la radiación UV y las mutaciones en p16, la radiación UV produce un daño directo en el ADN celular, induciendo la formación de dímeros de timina y radicales libres, y detiene a los melanocitos en las fases G1 y G2, lo que puede originar mutaciones genéticas adquiridas y deleciones cro-

mosómicas en genes de supresión tumoral, que inactivan en este caso concreto a p16, y contribuye de esta manera a la progresión y desarrollo del melanoma.

El papel de las variaciones genéticas de p16 en el desarrollo de nevos es controvertido. Mientras que algunos trabajos han señalado la presencia de mutaciones en p16 entre los miembros de familias con melanoma familiar se asoció con un gran número de nevos, otros autores encontraron porcentajes de mutaciones de p16 muy dispares entre familias con melanoma y aquellos miembros de estas familias que además tenían múltiples nevos atípicos, concluyendo que los alelos mutantes de p16 no son responsables del desarrollo de nevos displásicos o atípicos en estas familias^{36,48}.

Otro gen de alta penetrancia que parece conferir una gran susceptibilidad para el melanoma fue identificado en 1996 por Zuo et al⁴⁹. El CDK4 está estrechamente relacionado con la regulación del *CDKN2A* e interviene en la progresión del ciclo celular en la fase G1⁴⁶. Su mutación se localiza en el sitio de unión con p16. Sin embargo, existen muy pocos casos que presenten esta mutación⁵⁰.

El *locus* del *CDKN2A* también es responsable de la síntesis de p14ARF. Esta proteína pertenece al complejo p16^{INK4a}/ARF, que codifica el inhibidor cinasa ciclina-dependiente (INK) o p16(INK4a) y el p14ARF, activador de p53. Estímulos oncogénicos, como la exposición solar, inducen la expresión de ARF, que activa p53 bloqueando su degradación por la vía de la ubiquitina⁵¹. Aunque la mayoría de las mutaciones identificadas inactivan específicamente a p16(INK4a), algunas pueden producir defectos en la síntesis de p16(INK4a) y p14ARF. Recientemente se ha detectado un caso de asociación entre melanoma y una mutación con alteración específica en p14ARF y no en p16(INK4a)⁵². Las familias en las que se han detectado estas mutaciones son muy pocas hasta el momento para establecer cualquier conclusión.

Un cuarto gen de alta penetrancia, localizado en 1p22, ha sido recientemente identificado como marcador de susceptibilidad para el desarrollo de melanoma⁵³.

Otros genes con posible susceptibilidad en el melanoma

Existen otros genes en los que se ha estudiado su posible susceptibilidad para el desarrollo de melanoma (tabla 5). El estudio de algunas de estas mutaciones ayudaron curiosamente a localizar la mutación del gen *p16* en el cromosoma 9p21⁵⁴.

Davies et al⁵⁵ describieron cambios somáticos en el gen *BRAF* hasta en el 60 % de los melanomas. Este oncogén está implicado en el desarrollo de hasta el 15 % de todas las neoplasias del ser humano, y codifica una de las tres cinasas reguladas por el también oncogén *ras*. Se han identificado mutaciones de *BRAF* en nevos melanocíticos adquiridos, melanomas prima-

TABLA 5. GENES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE MELANOMA CUTÁNEO

Gen/locus/ cromosoma	Melanoma esporádico	Melanoma familiar
<i>Mutaciones de baja penetrancia</i>		
MC1R/16q243	+++	+/-
XRCC3	+/-	
<i>Mutaciones de alta penetrancia</i>		
CDK4/12q13/9p21	+	+
CDNK2A/p16/9p21	+	++
p14ARF		+
1p22		+/-
<i>Oncogenes</i>		
BRAF	+	
RAS	+	
<i>Otros</i>		
cdc2/PITSLRE/1p36	+	
PTEN/MMAC1/10q23	+	
AIM 1	+	
6q	+	

rios, metástasis de melanoma y cultivos celulares de melanoma en una proporción similar^{55,56}. Sin embargo, la presencia de estas mutaciones en melanomas en fase de crecimiento radial es muy inferior (10 %) a la identificada en melanomas en fase de crecimiento vertical y metástasis de melanoma (65-70 %)⁵⁶. Estas mutaciones, por tanto, no parecen estar implicadas en la génesis del melanoma, y sí en la progresión del melanoma hacia formas más agresivas y con capacidad metastásica. La presencia de estas mutaciones es más frecuente en melanomas que aparecen en sujetos expuestos de forma intermitente a la luz solar y muy raras en melanomas localizados en piel sometidas a daño solar crónico o regiones anatómicas poco o nada expuestas al sol, como palmas, plantas, subungueal o mucosas⁵⁷. Omholt et al⁵⁸ confirmaron que las mutaciones en *BRAF*, siendo Val599Glu la más frecuente, son las mismas en los tumores primarios que en las metástasis del mismo paciente, y que todos estos tumores tenían además la mutación N-Ras. Casula et al⁵⁹, tras analizar estas mutaciones en el gen *BRAF* tanto en ADN de sangre periférica como de muestras tisulares en 569 pacientes con melanoma, observaron que estas mutaciones eran muy frecuentes en las muestras tisulares (59 %), pero solamente cuatro (0,7 %) poseían mutaciones en el ADN de sangre periférica, concluyendo que las mutaciones en el gen *BRAF* son de carácter somático, y no confieren susceptibilidad hereditaria para padecer melanoma. Estas diferencias apoyan la existencia de distintas vías genéticas de susceptibilidad al melanoma⁶⁰.

Experimentos en ratones con déficit en el *locus CDKN2A* han demostrado su rol en la melanogéne-

sis al inducir melanomas mediante la activación de H-ras⁶¹. La familia de proto-oncogenes *ras* codifica unas proteínas trifosfato de guanosina (GTP)-dependientes involucradas en la transducción intracelular de señales estimuladoras de la mitosis celular derivadas de la activación de los receptores de los factores de crecimiento. Sus mutaciones son infrecuentes en el melanoma y su papel en la oncogénesis del melanoma sería colaborar en la progresión tumoral tras la iniciación tumoral derivada de una tendencia a la inmortalidad celular, consecuencia por ejemplo de la inactivación de p16⁶¹.

Recientemente, Curtin et al⁶² han estudiado la presencia de mutaciones en *BRAF* y N-ras en 126 pacientes con melanomas, clasificados en cuatro grupos según la localización del melanoma y la exposición a la luz UV. La mayoría de los pacientes con melanomas sin daño solar crónico tenían mutaciones en *BRAF* o N-ras, concluyendo que las alteraciones genéticas identificadas en melanomas de diferente localización y distintos niveles de exposición solar son independientes y siguen distintos mecanismos genéticos.

Mutaciones en el gen de la fosfatasa *PTEN/MMAC1*, localizado en el cromosoma 10q23.3, responsable además del síndrome de Cowden, se han descubierto en el 26-48 % de las células de melanoma metastásico, lo que indica la inactivación de este gen durante la progresión del melanoma^{63,64}.

La expresión del gen *cdc2*, localizado en el cromosoma 1p36, y que codifica la cinasa PITSLRE, es anormal en las células de melanoma resistentes a la apoptosis mediada por Fas. Este gen se asoció a desarrollo de melanoma en edades tempranas, melanoma múltiple primario y múltiples nevos displásicos, pero estudios posteriores en todo el mundo no han podido confirmar la especificidad de esta asociación⁶⁵. Se han implicado defectos en el gen *AIM 1* a la fase de crecimiento vertical del melanoma y al desarrollo de metástasis⁶⁶. Se han asociado pérdidas de heterogeneidad en el cromosoma 6 a melanomas primarios de gran espesor y melanoma metastásico⁶⁷.

Otro hecho interesante es la sobreexpresión de varios receptores de la tirosincinasa en el melanoma, incluyendo el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento tumoral alfa y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (*epidermal growth factor* o EGF). Se desconocen por el momento las mutaciones responsables de este hecho, confirmado en estudios en animales, así como su importancia en el origen y desarrollo del melanoma. Tampoco se ha podido confirmar que la asociación entre polimorfismos del EGF sea un factor de riesgo de melanoma⁶⁸.

Diversos autores, tanto nacionales como extranjeros, han estudiado la posible relación entre el HLA o complejo mayor de histocompatibilidad y la susceptibilidad frente al melanoma, sin encontrar ninguna asociación significativa⁶⁹⁻⁷³. No obstante, la homogeneidad en el *locus* HLA-DQA1, y probablemente tam-

bién para el alelo HLA-DQB1*0301, podría considerarse como un factor de riesgo potencial para el desarrollo de melanoma en sujetos con otros factores de riesgos, tanto genéticos como ambientales.

Susceptibilidad de desarrollo de otros tumores en pacientes con melanoma cutáneo

La susceptibilidad para tener un melanoma ha sido descrita en el contexto de varios síndromes neoplásicos familiares que incluían cáncer de mama, laringe, gastrointestinal, y sobre todo, páncreas⁷⁴⁻⁷⁶. Otros síndromes familiares más raros asociados a melanoma son la neurofibromatosis tipo I, el síndrome de Li-Fraumeni, el retinoblastoma o el melanoma ocular⁷⁴⁻⁸⁰. Goldstein et al⁸¹ observaron que en algunas familias de Estados Unidos portadoras de mutaciones del gen *CDNK2A* parecía existir una mayor prevalencia para padecer cáncer de páncreas. Borg et al⁸² en Holanda, encontraron que en diferentes familias con melanoma familiar existía un riesgo importante de cáncer de mama y de páncreas. Sin embargo, trabajos posteriores no han confirmado esta asociación entre la predisposición al melanoma y el desarrollo de otro tipo de cáncer visceral, sin que hasta el momento se haya podido establecer claramente que exista un riesgo adicional para el desarrollo de otras neoplasias distintas al melanoma asociado a esta mutación del *p16/CDNK2A*⁸³. La realización de nuevos estudios es necesaria para determinar si el riesgo de tumores familiares está significativamente aumentado en estas familias, además de investigar los posibles mecanismos genéticos comunes entre el melanoma y otros tumores.

Melanoma cutáneo y melanoma ocular

Son varios los trabajos que han tratado de establecer el papel que desempeñan las mutaciones en *MC1R* y *CDKN2A* sobre el desarrollo de melanoma ocular, sin que hasta el momento se halla visto asociación entre las mutaciones que predisponen al desarrollo de ambos tumores^{84,85}.

CONCLUSIÓN

El melanoma es una entidad muy importante dentro de la salud pública, debido a su todavía creciente incidencia y su todavía mortal evolución en muchos casos.

Los estudios sobre predisposición genética del melanoma deben continuar trabajando en busca de nuevos genes que permitan elucidar el papel etiopatogénico de los factores genéticos y ambientales, así como ejercer un mejor seguimiento de los pacientes con alto riesgo de desarrollar un melanoma^{86,87}.

Varios *loci* o genes implicados en la patogénesis del melanoma han sido identificados. La mayoría de los

trabajos realizados hasta ahora se han realizado en familias con melanoma múltiple y nevos atípicos, siendo las mutaciones en el *CDNK2A/p16* la mejor conocida y de mayor importancia hasta el momento.

Sin embargo, estas mutaciones son muy infrecuentes en la población general, por lo que los esfuerzos en este campo deberían dirigirse a mutaciones o desórdenes más fáciles de observar en la población general, como los polimorfismos del *MC1R*, que además nos ayudarían a entender la capacidad individual para desarrollar una correcta pigmentación.

Para obtener nuevas respuestas a las preguntas que los hallazgos en la genética del melanoma nos ha planteado en los últimos años, se requieren estudios multihospitalarios, grandes muestras de pacientes, una selección cuidadosa de los controles y que sean confirmados en al menos dos poblaciones distintas, lo que conlleva un alto coste de tiempo y medios hasta que puedan ofrecer resultados satisfactorios.

Los avances obtenidos en futuros estudios nos permitirán realizar tests genéticos de susceptibilidad al melanoma en personas con riesgo tanto de melanoma familiar como melanoma esporádico. También existe la posibilidad de crear nuevas estrategias terapéuticas frente al melanoma basadas en terapia génica o pequeñas moléculas sintetizadas con el objetivo de corregir los defectos en la regulación del ciclo celular, en el caso de p16, o de la capacidad para sintetizar eumelanina, en los polimorfismos de *MC1R* asociados al melanoma.

Declaración de conflicto de intereses

Declaramos no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parkin M, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer*. 1999;79:827-41.
2. Jones WO, Harman CR, Ng AK, Shaw JH. Incidence of malignant melanoma in Auckland, New Zealand: highest rates in the world. *World J Surg*. 1999;23:732-5.
3. Setlow RB, Grist E, Thompson K, Woodhead AD. Wavelengths effective in induction of malignant melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:6666-70.
4. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988;124:869-71.
5. Prota G. Melanins, melanogenesis and melanocytes: looking at their functional significance from the chemist's viewpoint. *Pigment Cell Res*. 2000;13:283-93.
6. Sturm RA, Box NF, Ramsay M. Human pigmentation genetics: the difference is only skin deep. *Bioessays*. 1998;20:712-21.
7. Orlow JS. The biogenesis of melanosomes. En: Nordund LL, Boissy RE, Hearing VJ, King RA, Ortonne JP, editors. *The pigimentary system: physiology and pathophysiology*. New York: Oxford University Press; 1998. p. 97-106.

8. Yamamoto O, Bhawan J. Three modes of melanosome transfers in Caucasian facial skin: hipótesis based on an ultrastructural study. *Pigment Cell Res.* 1994;7:158-69.
9. Xu X, Thornwal M, Lundin LG, Chhajlani V. Val92Met variant of the melanocyte stimulating hormone receptor gene. *Nat Genet.* 1996;14:384.
10. Hunt G, Kyne S, Wakamatsu K, Ito S, thody AJ. Nle4Dphe7 alpha-melanocyte-stimulating hormone increases the eumelanin: pheomelanin ratio in cultured human melanocytes. *J Invest Dermatol.* 1995;104:83-5.
11. Cesarini JP, Msika P. Photoprotection from UV-induced pigmentation and melanin introduced in sunscreens. En: Zeise L, Chedekel MR, Fitzpatrick TB, editors. *Melanin: its role in human photoprotection.* Overland Park: Valdenmar Publishing Company; 1995. p. 2329-44.
12. Hill HZ. The function of melanin or six blind people examine an elephant. *Bioessays.* 1992;14:49-56.
13. McGovern VJ. Melanoblastoma. *Med J Austr.* 1952:139-42.
14. Weinstock MA. Ultraviolet radiation and skin cancer: epidemiological data from the United States and Canada. En: Young ARBjörn LO, Mōan J, et al, editors. *Environmental UV Photobiology.* New York: Plenum Press; 1993. p. 295-344.
15. Elwood JA, Johnson J. Melanoma and sun exposure. An overview of published studies. *Int J Cancer.* 1997;73:198-203.
16. Whiteman DC, Whiteman AC, Green AC. Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control.* 2001;12:69-82.
17. Bataille V. Genetic epidemiology of melanoma. *Eur J Cancer.* 2003;39:1341-7.
18. Sturm RA. Skin colour and skin cancer - MC1R, the genetic link. *Melanoma Res.* 2002;12:405-16.
19. Kanetsky PA, Swoyer J, Panossian S, Holmes R, Guerry D, Rebbeck TR. A polymorphism in the agouti signaling protein gene is associated with human pigmentation. *Am J Hum Genet.* 2002;70:770-5.
20. Abdel-Malek Z, Scott MC, Suzuki I, et al. The melanocortin-1 receptor is a key regulator of human cutaneous pigmentation. *Pigment Cell Res.* 2000;13 Suppl 8:156-62.
21. Box NF, Duffy DL, Chen W, et al. MC1R genotype modifies risk of melanoma in families segregating CDKN2A mutations. *Am J Hum Genet.* 2001;69:765-73.
22. Smith R, Healy E, Siddiqui S, et al. Melanocortin 1 receptor variants in an Irish population. *J Invest Dermatol.* 1998;111:119-22.
23. Valverde P, Healy E, Sikkink S, et al. The Asp84Glu variant of the melanocortin 1 receptor (MC1R) is associated with melanoma. *Hum Mol Genet.* 1996;5:1663-6.
24. Sturm RA, Teasdale RD, Box NF. Human pigmentation genes: identification, structure and consequences of polymorphic variation. *Gene.* 2001;277:49-62.
25. Schioth HB, Phillips SR, Rudzish R, Birch-Machin MA, Wikberg JE, Rees JL. Loss of function mutations of the human melanocortin 1 receptor are common and are associated with red hair. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;260:488-91.
26. Jiménez-Cervantes C, Germer S, González P, et al. Thr40 and Met122 are new partial loss-of-function natural mutations of the human melanocortin 1 receptor. *FEBS Lett.* 2001;508:44-8.
27. Palmer JS, Duffy DL, Box NF, et al. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? *Am J Hum Genet.* 2000;66:176-86.
28. Kennedy C, Ter Huurne J, Berkhout M, et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color. *J Invest Dermatol.* 2001;117:294-300.
29. Bastiaens MT, Ter Huurne JA, Kielich C, et al. Melanocortin-1 receptor gene variants determine the risk of nonmelanoma skin cancer independently of fair skin and red hair. *Am J Hum Genet.* 2001;68:884-94.
30. Matchard E, Verpillat P, Meziani R, et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants may increase the risk of melanoma in France independently of clinical risk factors and UV exposure. *J Med Genet.* 2004;41:e13.
31. Winsey SL, Haldar NA, Marsh HP, et al. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. *Cancer Res.* 2000;60:5612-6.
32. Duan Z, Shen H, Lee JE, et al. DNA repair gene XRCC3 241Met variant is not associated with risk of cutaneous malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11:1142-3.
33. Bertram CG, Gaut RM, Barrett JH, et al. An assessment of a variant of the DNA repair gene XRCC3 as a possible nevus or melanoma susceptibility genotype. *J Invest Dermatol.* 2004;122:429-32.
34. Berwick M. Epidemiology. Current trends, risk factors, and environmental concerns. En: Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, Soong S, editors. *Cutaneous melanoma.* 3rd ed. St. Louis: QMP 1998; p. 551-71.
35. Ford D, Bliss JM, Swerdlow AJ, et al. Risk of cutaneous melanoma associated with a family history of the disease. The International Melanoma Analysis Group (IMAGE). *Int J Cancer.* 1995;62:377-81.
36. Hussussian CJ, Struwing JP, Goldstein AM, et al. Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet.* 1994;8:15-21.
37. Bishop DT, Demenais F, Goldstein AM, et al. Geographical variation in the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:894-903.
38. Monzon J, Liu L, Brill H, et al. CDKN2A mutations in multiple primary melanomas. *N Engl J Med.* 1998;338:879-87.
39. Haluska FG, Hodi FS. Molecular genetics of familial cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 1998;16:670-82.
40. Luca M, Xie S, Gutman M, Huang S, Bar-Eli M. Abnormalities in the CDKN2 (p16INK4/MTS-1) gene in human melanoma cells: relevance to tumor growth and metastasis. *Oncogene.* 1995;11:1399-402.
41. Glendening JM, Flores JF, Walker GJ, et al. Homozygous loss of the p15INK4B gene (and not the p16INK4 gene) during tumor progression in a sporadic melanoma patient. *Cancer Res.* 1995;55:5531-5.
42. Straume O, Akslen LA. Alterations and prognostic significance of p16 and p53 protein expression in subgroups of cutaneous melanoma. *Int J Cancer.* 1997;74:535-9.
43. Grover R, Chana JS, Wilson GD, Richman PI, Sanders R. An analysis of p16 protein expression in sporadic malignant melanoma. *Melanoma Res.* 1998;8:267-72.

44. Talve L, Sauroja I, Collan Y, Punnonen K, Ekfors T. Loss of expression of the p16INK4/CDKN2 gene in cutaneous malignant melanoma correlates with tumor cell proliferation and invasive stage. *Int J Cancer*. 1997;74:255-9.
45. Funk JO, Schiller PI, Barrett MT, Wong DJ, Kind P, Sander CA. p16INK4a expression is frequently decreased and associated with 9p21 loss of heterozygosity in sporadic melanoma. *J Cutan Pathol*. 1998;25:291-6.
46. Piepkorn M. Melanoma genetics: an update with focus on the CDKN2A(p16)/ARF tumor suppressors. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:705-22.
47. Ruiz A, Puig S, Malveyh J, et al. CDKN2A mutations in Spanish cutaneous malignant melanoma families and patients with multiple melanomas and other neoplasia. *J Med Genet*. 1999;36:490-3.
48. Van der Velden PA, Sandkuijl LA, Bergman W, et al. Melanocortin-1 receptor variant R151C modifies melanoma risk in Dutch families with melanoma. *Am J Hum Genet*. 2001;69:774-9.
49. Zuo L, Weger J, Yang Q, et al. Germline mutations in the p16INK4a binding domain of CDK4 in familial melanoma. *Nat Genet*. 1996;12:97-9.
50. Goldstein AM, Chidambaram A, Halpern A, et al. Rarity of CDK4 germline mutations in familial melanoma. *Melanoma Res*. 2002;12:51-5.
51. Pomerantz J, Schreiber-Agus N, Liegeois NJ, et al. The Ink4a tumor suppressor gene product, p19Arf, interacts with MDM2 and neutralizes MDM2's inhibition of p53. *Cell*. 1998;92:713-23.
52. Rizos H, Puig S, Badenas C, et al. A melanoma-associated germline mutation in exon 1beta inactivates p14ARF. *Oncogene*. 2001;20:5543-7.
53. Gillanders E, Juo SH, Holland EA, et al. Localization of a novel melanoma susceptibility locus to 1p22. *Am J Hum Genet*. 2003;73:301-13.
54. Fountain JW, Karayiorgou M, Ernstoff MS, et al. Homozygous deletions within human chromosome band 9p21 in melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89:10557-61.
55. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417:949-54.
56. Dong J, Phelps RG, Qiao R, et al. BRAF oncogenic mutations correlate with progression rather than initiation of human melanoma. *Cancer Res*. 2003;63:3883-5.
57. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, et al. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:1878-90.
58. Omholt K, Platz A, Kanter L, Ringborg U, Hansson J. NRAS and BRAF mutations arise early during melanoma pathogenesis and are preserved throughout tumor progression. *Clin Cancer Res*. 2003;9:6483-8.
59. Casula M, Colombino M, Satta MP, et al. BRAF gene is somatically mutated but does not make a major contribution to malignant melanoma susceptibility: the Italian Melanoma Intergroup Study. *J Clin Oncol*. 2004;22:286-92.
60. Rivers JK. Is there more than one road to melanoma? *Lancet*. 2004;363:728-30.
61. Chin L, Merlino G, DePinho RA. Malignant melanoma: modern black plague and genetic black box. *Genes Dev*. 1998;12:3467-81.
62. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 2005;353:2135-47.
63. Indsto JO, Holland EA, Kefford RF, Mann GJ. 10q deletions in metastatic cutaneous melanoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 1998;100:68-71.
64. Guldborg P, Thor Straten P, Birck A, et al. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. *Cancer Res*. 1997;57:3660-3.
65. Bergman W, Gruis NA, Sandkuijl LA, Frants RR. Genetics of seven Dutch familial atypical multiple mole-melanoma syndrome families: a review of linkage results including chromosomes 1 and 9. *J Invest Dermatol*. 1994;103:122S-5S.
66. Castellano M, Parmiani G. Genes involved in melanoma: an overview of INK4a and other loci. *Melanoma Res*. 1999;9:421-32.
67. Ortonne JP. Photobiology and genetics of malignant melanoma. *Br J Dermatol*. 2002;146 Suppl 61:11-6.
68. Shahbazi M, Pravica V, Nasreen N, et al. Association between functional polymorphism in EGF gene and malignant melanoma. *Lancet*. 2002;359:397-401.
69. Nagore E, Planelles MD, Ledesma E, et al. Molecular genetic analysis of HLA-DR and -DQ alleles in Spanish patients with melanoma. *Acta Derm Venereol*. 2002;82:90-3.
70. Bale SJ, Greene MH, Murray C, et al. Hereditary malignant melanoma is not linked to the HLA complex on chromosome 6. *Int J Cancer*. 1985;36:439-43.
71. López-Nevot MA, García E, Romero C, Oliva MR, Serrano S, Garrido F. Phenotypic and genetic analysis of HLA class I and HLA-DR antigen expression on human melanomas. *Exp Clin Immunogenet*. 1988;5:203-12.
72. Bateman AC, Turner SJ, Theaker JM, Howell WM. HLA-DQB1*0303 and *0301 alleles influence susceptibility to and prognosis in cutaneous malignant melanoma in the British Caucasian population. *Tissue Antigens*. 1998;52:67-73.
73. Planelles D, Nagore E, Moret A, et al. HLA class II polymorphisms in Spanish melanoma patients: homozygosity for HLA-DQA1 locus can be a potential melanoma risk factor. *Br J Dermatol*. 2006;154:261-6.
74. Bergman W, Watson P, De Jong J, Lynch HT, Fusaro RM. Systemic cancer and the FAMMM syndrome. *Br J Cancer*. 1990;61:932-6.
75. Anderson H, Bladstrom A, Olsson H, Moller TR. Familial breast and ovarian cancer: a Swedish population-based register study. *Am J Epidemiol* 2000;152:1154-63.
76. Lynch HT, Brand RE, Hogg D, et al. Phenotypic variation in eight extended CDKN2A germline mutation familial atypical mole melanoma-pancreatic-prone families: the familial atypical mole melanoma-pancreatic carcinoma syndrome. *Cancer* 2002;94:84-96.
77. Bataille V, Hiles R, Bishop JA. Retinoblastoma, melanoma and the atypical mole syndrome. *Br J Dermatol*. 1995;132:134-8.
78. Bataille V, Pinney E, Hungerford JL, Cuzick J, Bishop DT, Newton JA. Five cases of co-existent primary ocular and cutaneous melanoma. *Arch Dermatol*. 1993;129:198-201.
79. Azizi E, Friedman J, Pavlotsky F, et al. Familial cutaneous malignant melanoma and tumours of the nervous system. An hereditary cancer syndrome. *Cancer*. 1995;1:1571-8.

80. Sun S, Pollock PM, Liu L, et al. CDKN2A mutation in a non-FAMMM kindred with cancers at multiple sites results in a functionally abnormal protein. *Int J Cancer*. 1997;73:531-6.
81. Goldstein AM, Fraser MC, Struewing JP. Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16INK4 mutations. *N Engl J Med*. 1995;333:970-4.
82. Borg A, Sandberg T, Nilsson K, et al. High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in CDKN2A mutation-positive melanoma families. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92:1260-6.
83. Alao JP, Mohammed MQ, Retsas S. The CDKN2A tumour suppressor gene: no mutations detected in patients with melanoma and additional unrelated cancers. *Melanoma Res*. 2002;12:559-63.
84. Hearle N, Humphreys J, Damato BE, et al. Role of MC1R variants in uveal melanoma. *Br J Cancer*. 2003;89:1961-5.
85. Vajdic C, Krickler A, Duffy DL, et al. Ocular melanoma is not associated with CDKN2A or MC1R variants. *Melanoma Res*. 2003;13:409-13.
86. Kefford R, Bishop JN, Tucker M, et al. Genetic testing for melanoma. *Lancet Oncol*. 2002;3:653-4.
87. Hayward NK. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene*. 2003;22:3053-62.