

UV-stråler og malignt melanom

Anne Karen Vøien



Prosjektoppgave ved Det medisinske fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Innhold

INNHold	2
1. ABSTRACT	3
2. INNLEDNING	4
3. MÅLET MED STUDIEN	9
4. MATERIALE OG METODE	10
5. RESULTATER	12
5.1 UVB KARSINOGENESE.....	12
5.2 UVA KARSINOGENESE	14
5.3 RELASJONEN MALIGNT MELANOM OG UVA/UVB.....	16
5.3.1 <i>Basale studier</i>	16
5.3.2 <i>Epidemiologiske studier</i>	20
5.4 BRUK AV SOLARIUM.....	22
5.5 BRUK AV SOLKREM	24
6. DISKUSJON	26
6.1 UVA/UVB.....	26
6.2 SOLARIEBRUK	29
6.3 SOLKREMER	32
6.4 PROBLEMER MED SAMMENLIGNING.....	35
7. KONKLUSJON	36
8. REFERANSER	37

1. Abstract

Background: Malignant melanoma is the type of skin cancer with the greatest rise of registered incidence and with the greatest mortality. It is well known that ultraviolet radiation can cause melanoma, but there has been much uncertainty regarding the exact spectrum of radiation that initiates the carcinogenesis.

Purpose: To study what is known regarding the roles of UVA and UVB in melanoma carcinogenesis.

Method: Literature study based on searches in the PubMed database, for publications concerning malignant melanoma and UVA and UVB, sun beds and sunscreen.

Results: Both UVB and UVA can damage human melanocyte DNA in vivo and in vitro. Of the mutations in human melanomas, some are thought to be UV-specific, but there is disagreement as to whether UVB or UVA causes these mutations. Still, many mutations are of unknown cause. Animal studies show different results. The results of epidemiological studies points to an association between UVA and melanoma. There seems to be an association between sun bed use and melanoma, especially when using sun bed before the age of 30-35. Studies concerning sunscreen and melanoma risk show highly varying results.

Conclusion: Ultraviolet radiation can cause melanoma. It is difficult to conclude about the relative roles of UVA and UVB in the carcinogenesis, but both seems to be of significance.

2. Innledning

Malignt melanom – eller føflekkreft, er en av tre hovedgrupper av hudkreft. De andre er basalcellekarsinom og spinocellulær cancer (plateepitelkarsinom). Siden 1950-tallet har antall registrerte hudkreft-tilfeller i Norge økt med over 500% (1) og utgjør nå et betydelig helseproblem. De siste insidenstillene er fra 2005, da det i Norge ble registrert 1136 nye tilfeller av malignt melanom og 1342 av andre hudkrefttyper (ekskludert basalcellekarsinom). (2) Grunnen til økningen i forekomsten antas for en stor del å skyldes endrede solingsvaner.

Malignt melanom utvikles ved en malign transformasjon av melanocytter. Melanomet kan utgå fra allerede eksisterende nevi, men også oppstå de novo. Tumor kan oppstå i hud, slimhinner eller øye. Man finner melanom på de fleste steder på kroppen, også steder som ikke er særlig eksponert for sol. Etter morfologi og vekstmønster deler man gjerne krefttypen inn i disse undergruppene: Superficielt spredende-, nodulært-, akkalt lentiginøst-, lentigo maligna-, amelanotisk- og desmoplastisk melanom. Superficielt spredende melanom utgjør 70-80% og vokser overfladisk i opptil flere år før infiltrasjon. Den har dermed vanligvis relativt god prognose. Den nodulære typen (10-15%), derimot, viser seg som en knute, infiltrerer og metastaserer tidlig og har oftest dårlig prognose. Akkalt lentiginøst melanom (5-10%) utgår fra håndflater, fotsåler eller slimhinner og er farlig fordi det som regel diagnostiseres sent. Lentigo maligna-melanom (5%) utgår fra lentigo maligna-flekker på soleksponte hudområder hos eldre mennesker. Diagnostisering av melanom starter med en klinisk vurdering av suspekterte lesjoner ut fra de såkalte ABCDE-kriteriene. Man vurderer her grad av asymmetri (Asymmetry), avgrensning (Border), farge (Colour), størrelse (Diameter) og utvikling (Evolution). Endelig diagnose stilles ved histologisk undersøkelse av lesjonen. Videre er det aktuelt med billeddannende undersøkelser for stadieinndeling. Melanom deles inn i fire stadier i henhold til det internasjonale AJCC-systemet (American Joint Committee Cancer Staging Manual): 0: Melanoma

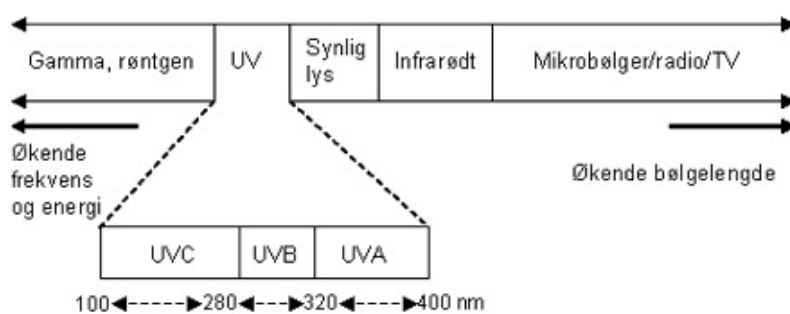
in situ. I og II: Lokalt voksende malignt melanom. III: Lymfeknutemetastaser. IV: Fjernmetastaser. Når det gjelder behandling, må man først og fremst fjerne hudlesjonen ved vid eksisjon. For metastatisk melanom er også kirurgi hovedbehandling, da inkludert lymfeknutetolett. Andre, mer usikre behandlingsformer omfatter stråling, cytostatika og immunmodulerende behandling. Prognosen er hovedsaklig avhengig av tykkelsen til primærlesjonen og om det foreligger lymfeknutemetastaser. (3)

Av de tre hovedtypene av hudkreft, har malignt melanom høyest mortalitet: I 2004 døde 266 personer i Norge av malignt melanom, mot 27 av andre hudkreftformer. (2) Melanom oppdages tidligere nå enn før. Det innebærer at en mindre andel av pasientene dør av sykdommen. For å kunne tilby bedre behandling og for å forebygge nye tilfeller, er mye forskning utført på etiologi og patogenese. Flere risikofaktorer er identifisert, både endogene (verts faktorer) og eksogene (miljøfaktorer). Verts faktorer som bør nevnes er: familiehistorie med melanom, disponerende gener for melanomutvikling, antall og type nevi, hudtype og pigmentering. (4) I de familiære tilfellene av melanom, er det påvist kimcellemutasjoner i tumorsuppressorgenet CDKN2A (koder for p16 og p14ARF) og i onkogenet CDK4. (4) Ellers er blant annet mutasjon av DNA-reparasjongs gener av interesse, siden xeroderma pigmentosum pasienter har økt forekomst av melanom. (3) Når det gjelder nevi, gir både høyt antall og dysplastiske nevi økt melanomrisiko. Kriteriene for diagnosen dysplastisk nevus har vært omdiskutert, men epidemiologiske studier viser assosiasjon med melanom uansett hvilken definisjon som brukes. (4) Lys hud, rødt eller lyst hår og fregner disponerer også for melanom. (4)

Blant miljøfaktorer som årsak, er UV-stråling klart dominerende. (4,5) Intermitterende soleksponering er vist å øke risikoen, mens kronisk eksponering faktisk ser ut til å beskytte. (6) Det har vært diskutert om solforbrenninger spiller

størst rolle for kreftutvikling når man blir brent som barn, men en metaanalyse viste at selvrapportert solforbrenning var assosiert med lik grad av økt melanomrisiko, uavhengig av alder. (6)

Hva er så UV-stråling? "UV" står for "ultrafiolett" og ultrafiolett stråling er elektromagnetisk stråling med høyere frekvens og kortere bølgelengde enn synlig lys. Solen er vår naturlige kilde til UV-stråling, mens kunstige UV-kilder utnyttes i kosmetiske, medisinske og industrielle sammenhenger. (7) UV-strålene kan deles inn i UVA, UVB og UVC. UVA-strålene ligger nærmest spekteret for synlig lys og dekker bølgelengdene mellom 320 og 400 nm. UVB-spekteret ligger mellom 280 og 320 nm og UVC er strålene med bølgelengde mindre enn 280 nm (Figur 1). Hovedsaklig takket være ozonlaget, absorberes all stråling med bølgelengde mindre enn 290 nm på vei fra solen til jorden, slik at den UV-strålingen som til slutt når jordoverflaten består av kun ca 3-5% UVB og resten UVA. (8) Av de to typene har UVB mest energi per foton, mens UVA når dypest ned i huden. (5,9)



Figur 1: Plassering av UV-lys i det elektromagnetiske spektrum og inndeling i UVA, UVB og UVC. (7)

Å kartlegge UV-strålingens betydning for helse og sykdom er vanskelig, blant annet fordi intensiteten og sammensetningen av strålingen varierer både med tid og sted. En påvirkende faktor er tykkelsen av skylaget: Et tykt skylag kan svekke UV-strålingen

med opptil 90%, mens et tynt skylag slipper gjennom nesten all strålingen.

Intensiteten er også avhengig av avstanden til solen: Når solen står høyt på himmelen, er gangveien gjennom atmosfæren mindre enn når den står lavt. Det gjør at mindre av UV-strålene absorberes og intensiteten blir sterkere. UV-nivået varierer med tid på døgnet, årstid og breddegrad. UV-strålingen er dessuten sterkere på fjellet enn ved havoverflaten. En tredje faktor som påvirker er refleksjon. Snø, og spesielt nysnø reflekterer mye mer stråling enn mørke flater og øker dermed UV-intensiteten. (7) Når det gjelder bølglengdesammensetningen av lyset, varierer også den med noen av disse faktorene. Siden UVB absorberes av ozonlaget i større grad enn UVA, inneholder sollyset en forholdsvis større andel UVA ved høyere enn ved lavere breddegrader. (10) UVA-strålene trenger dessuten gjennom barrierer som glass, i motsetning til UVB-strålene. (5,9). På en overskyet dag, trenger UVA også gjennom skylaget. Begge stråletyper kan trenge gjennom lett bekledning. UV-strålingen kan regnes som positiv, blant annet med tanke på at den stimulerer dannelsen av D-vitamin i huden og at den gir huden en fin brunfarge. Men det er også en rekke skadevirkninger knyttet til UV-stråling: solforbrenning, skader på øyet (katarakt og korneaepiteldefekter), for tidlig aldring av huden og utvikling av hudkreft. (11)

Når det gjelder den eksakte mekanismen for hvordan UV kan forårsake melanom, er den vitenskapelige kunnskapen ennå ufullstendig. Man diskuterer for eksempel hvilke deler av UV-spektret som spiller størst rolle i karsinogenesen. Det såkalte aksjonsspektret for melanom ville vært nyttig å kjenne til, blant annet med tanke på rådgivning om bruk av solarium i forhold til naturlig soling og om solkrembruk. Tidlig på 1980-tallet gjennomgikk solariene i mange land en revolusjonerende endring: Fra at lampene sendte ut en stor andel UVB-stråler (22-40%), gikk man over til å bruke lamper som sendte ut hovedsaklig UVA-stråler. Andelen UVB ble med det redusert til mellom 0,5% og 5% og solariene kom til å utgjøre en relativt større kilde til UVA enn vanlig sollys. (12,13) Solkrem, på sin side, er hevdet å beskytte bedre mot UVB enn mot UVA, noe som også fører til en forskyvning i eksponeringen i

retning UVA. Ved hjelp av epidemiologiske studier på henholdsvis solariumbruk og solkrembruk i forhold til melanomrisiko, kan man tenkes å få en indikasjon på hvilke stråler som er mest karsinogene, samtidig som man får holdepunkter for klinisk rådgivning.

3. Målet med studien

Med denne bakgrunnen, ønsket jeg å finne ut mer om de ulike typene UV-strålers betydning for utvikling av malignt melanom. Som ledd i studien ville jeg undersøke innvirkning av henholdsvis solariumbruk og solkrembruk på melanomrisiko.

4. Materiale og Metode

Før jeg gikk i gang med å søke etter litteratur om emnet, deltok jeg på et tredagers kurs i kunnskapshåndtering samt et halvdagskurs i søking i databasen PubMed.

Jeg tok utgangspunkt i disse søkene i PubMed:

- I. (malignant melanoma AND UVA AND UVB) OR (malignant melanoma AND ultraviolet A AND ultraviolet B)
- II. Malignant melanoma AND (tanning bed* OR tanning lamp* OR indoor tanning OR tanning booth* OR sunlamp* OR sunbed*)
- III. Malignant melanoma AND sunscreen AND risk

For å begrense antall treff, søkte jeg kun etter oversiktsartikler og metaanalyser publisert i løpet av de siste 10 år. Arbeidet med oppgaven ble påbegynt i mai 2006. Tidsrommet ”de siste 10 år” ble valgt i samråd med veileder og man antok at det ville romme de mest relevante data. I og med at dette er en studentoppgave med små økonomiske ressurser, begrenset jeg også utvalget til artikler med tilgang til fulltekst.

Underveis i arbeidet med oppgaven, ble flere nylig publiserte artikler inkludert i hovedsøkene mine i PubMed. Det endelige utvalget av litteratur var publisert innenfor tidsrommet mai 1996 - august 2007.

	Oversiktsanalyser (reviews)	Metaanalyser
Søk I	21	1
Søk II	8	1
Søk III	25	3

Der oversiktsartiklene presenterte relevante patogenese-data fra primærstudier, lette jeg fram originalartiklene og refererte direkte fra dem.

5. Resultater

5.1 UVB karsinogenese

Mye forskning er utført på betydningen av UV-stråling for non-melanom hudkreft, og det synes klart at UVB er en viktig årsaksfaktor ved disse krefttypene. (12,14-17) Når det gjelder melanom, derimot, er forskningen mer sparsom. Før jeg går inn på betydningen av UV-stråling for melanom spesielt, vil jeg se på strålenes generelle karsinogene mekanismer.

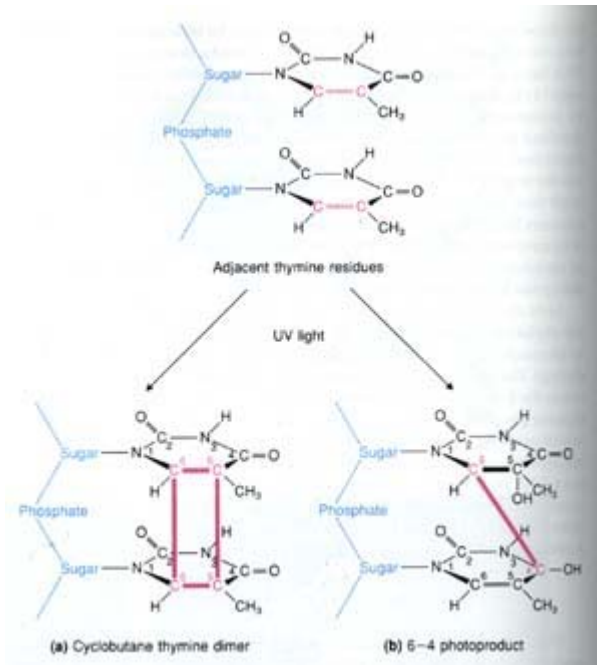
UVB fører til kreft via tre mekanismer: Direkte DNA-skade, forbigående stressreaksjon i cellen og immunsuppresjon. (17)

Stråler i UVB-spektret absorberes direkte av DNA og forårsaker skader. Den mest utbredte forandringen er dannelsen av cyklobutanpyrimidindimerer (CPDer) mellom 5,6 bindingene til to naboliggende pyrimidiner. (15) Pyrimidin(6-4)pyrimidon fotoprodukter dannes også relativt hyppig ved UVB-stråling og er karakterisert ved en stabil binding mellom posisjonene 6 og 4 til to nærliggende pyrimidiner. (5,15) (Figur 2) Normalt repareres DNA-skader av DNA-reparasjonmekanismer i cellene, men ved manglende reparasjon, kan skadene gi opphav til varige mutasjoner. Transisjonsmutasjonene C(cytosin) til T(tymidin) og CC til TT regnes som UV-typiske. (5,15,17) Hvis mutasjonene fører til at tumorsuppressorgener ikke blir uttrykt eller mister sin funksjon eller på den annen side at onkogener blir uttrykt, transformeres cellen til å bli malign. Som nevnt, skyldes skadevirkningen av UVB at strålene absorberes direkte av DNA. En tilleggsmekanisme kan være dannelse av reaktive oksygenderivater. (18) Denne mekanismen er mer utførlig beskrevet nedenfor, i forbindelse med UVAs karsinogenese.

UVB initierer også en forbigående stressrespons i cellen ved påvirkning av cellemembranen. Stressresponsen innebærer blant annet økt produksjon av vekstfaktorer, som kan fremme celleproliferasjon og dermed begrense DNA reparasjon. (17)

Den immunsupprimerende virkningen av UVB skjer gjennom hemmet antigenpresentasjon, induert frigjøring av immunsuppressive cytokiner og apoptose av leukocytter. (19) Effekten omfatter både lokale og systemiske mekanismer. Et slikt svekket immunsystem gir mulighet for maligne celler til å unnsnippe kontroll, og de kan utvikle seg til tumores. Hvis vi ser nærmere på påvirkningen av immunsystemet, er det blant annet vist at UVB hemmer kontakthypersensitivitet. Denne effekten er lokal, i og med at applikasjon av antigene haptener på UV-bestrålt hud ikke induserer den normale hypersensitivetsreaksjonen, (20) og systemisk, siden applikasjon av haptener på andre hudområder enn de bestrålte heller ikke induserer normal reaksjon. (21) Den lokale reaksjonen er assosiert med reduksjon av antall Langerhansceller i huden. (20) Langerhanscellene er de viktigste antigenpresenterende cellene i huden og spiller en stor rolle for initiering av en type IV immunrespons. Både antall og funksjon reduseres ved UVB-bestråling. (22-24) Når det gjelder den systemiske svekkelsen av kontakthypersensitivitet, virker UVB trolig gjennom å indusere frigjøring av cytokiner som for eksempel IL 10 fra keratinocytene. (19) IL-10 går inn i sirkulasjonen og hemmer immunsystemet via flere mekanismer. (25) En annen viktig faktor, både i den lokale og den systemiske immunsuppresjonen er indusering av regulatoriske T-celler. De virker blant annet ved å sørge for utvikling av spesifikk toleranse for antigener som appliseres på UV-bestrålt hud. Det vil si at kroppen i lang tid ikke reagerer med immunrespons på de bestemte antigenene. (19) Den molekylære triggeren for en stor del av den UVB-induserte immunsuppresjonen ser ut til å være DNA-skade. (24,26-28) En annen triggermekanisme er omgjøring av trans-UCA (urocanic acid - urokansyre) til cis-UCA. (17,19,25) Peroksidering av

lipidmembranen ved UV-induserte oksygenradikaler har også vært på tale som trigger av immunsuppresjon. (25)



Figur 2: Dannelse av syklobutanpyrimidindimer (CPD) og (6-4)pyrimidon fotoprodukt ved UV-stråling. (29)

5.2 UVA karsinogenese

Den eksakte mekanismen for kreftutvikling som følge av UVA-stråling er ikke så godt kjent som for UVB, (30) men en del kunnskap finnes. Strålene i den øverste delen av UVA-spektret (340-400nm) absorberes i liten grad av DNA. Mutagenesen skjer i stedet via mer indirekte mekanismer. Når UVA-strålene når stratum basale i epidermis, reagerer de med kromoforer i melanocytene. En kromofor er et fargeradikal, den atomgruppering som fargen på et stoff er avhengig av. (31) De mest aktuelle fargeradikalene i denne forbindelse er sannsynligvis melaninstoffer.

Feomelanin/total melanin ratio ser ut til å bety mer for fotosensivering enn den totale melaninmengden (feomelanin pluss eumelanin). (32) Feomelanin gir rødfarge

og eumelanin brunfarge. Resultatet av reaksjonene mellom UVA og kromoforene er reaktive oksygenderivater som for eksempel "singel oksygen", superoksidradikal og hydrogenperoksid. (5,9) Disse stoffene fører videre til oksidativ DNA skade, som igjen kan gi opphav til mutasjoner. Den oksidative skaden består i kutt av DNA-enkeltråd, basemodifikasjon, søsterkromatid-utveksling og kromosomale aberrasjoner.(9) I et forsøk med UV-bestråling av ovarieceller fra hamster, fant man at T(tymidin)-til G(guanin)-transversjonsmutasjoner opptrer mye hyppigere i UVA-enn i UVB-bestrålte celler (50% mot 9%). (33) Ut fra dette, blir T- til G-transversjonen av flere regnet som en UVA-signatur-mutasjon (5,9,33) Alle studier støtter ikke opp om dette: I et forsøk med fibroblaster fra mus, fant man at UVA induiserte signifikant økning av G- til T- transversjoner og små tandem base delesjoner, men ikke T- til G-transversjoner. (34)

UVAs påvirkning av DNA gjennom oksidativ skade er den hyppigst beskrevne mekanismen, men nylig er det også rapportert at UVA kan induisere cyklopyrimidindimerer. (35) Pfeifer et al (15) forklarer dette med forskjeller i bølgelengder benyttet i ulike forsøk. Bølgelengder under 340nm kan føre til små mengder CPDer, mens bølgelengder begrenset til UVA-spekteret over 340nm fører til mutasjoner mer forenlig med den oksidative hypotesen.

UVAs rolle i immunsuppresjon er mer kontroversiell enn UVBs rolle. (9,12) Wang et al (9) presenterer i en oversiktsartikkel sju eksperimentelle studier vedrørende UVAs evne til å svekke immunforsvaret. Av disse, konkluderer fem med at UVA-bestråling medfører immunsuppresjon, mens to studier ikke viser noen slik sammenheng. Wang et al påpeker at faktorer som ulik UVB kontaminering, ulike UVA-doser og enkelt-versus repetert eksponering kan forklare de motstridende resultatene. UVAs påvirkning av immunsystemet blir også diskutert i en oversiktsartikkel av Phan et al. (25) Forfatterne refererer flere studier vedrørende aksjonsspektrum for

immunsuppresjon og påpeker at UVAs virkning ser ut til å variere med dose. Ved lave doser observeres UVA å hemme immunsystemet, mens det ved høyere doser ikke utøver noen effekt. De høye dosene UVA ser heller ut til å beskytte mot UVB-indusert immunsuppresjon. Fenomenet er observert i både dyrestudier og humane studier.

5.3 Relasjonen malignt melanom og UVA/UVB

5.3.1 Basale studier

For å avdekke en mulig sammenheng mellom UVB og melanomutvikling spesielt, er det utført ulike studier. Blant annet har man undersøkt innvirkningen av UVB-stråling på dyrkede humane melanocytter in vitro og funnet økt antall CPDer i melanocytene etter bestråling. (36,37) I andre studier er det gjort forsøk med transplantasjon av hud fra mennesket over på SCID-mus. (SCID: Severe Combined ImmunoDeficiency). Et av funnene var at overekspresjon av vekstfaktorer kunne spille en rolle for melanomutvikling. Dersom vekstfaktorekspresjonen ble kombinert med UVB-bestråling, økte forekomsten og invasiviteten til melanomene. (38,39)

I noen basale studier har man undersøkt effekten av UVA-bestråling på melanomutvikling. Marrot et al (40) påviste kutt i DNA-tråder i dyrkede melanocytter fra mennesket etter bestråling med bredspektret UVA-lys. De fant også en økt ekspresjon av p53 i de bestrålte melanocytene, noe som tydet på at DNA var skadet. Kuttene syntes å være mer utbredt i melaninholdige celler enn i andre. At UVA-eksponering kan føre til kutt i melanocyt-DNA er senere blitt bekreftet av en annen studie. (32)

DNA skade i form av CPDer er påvist i UV-bestrålt menneskehud in vivo. (41,42) I en studie ble tidligere ueksponert hud av hudtype 1 og 2 bestrålt med UVA og UVB hver for seg, og man fant at begge stråletyper førte til dannelse av tymindimerer i melanocyt-DNA, på nivå med det i keratinocytter. (41) En lignende studie bekreftet at omtrent samme antall pyrimidindimerer dannes i huden enten erytem forårsakes av UVB eller UVA. (42) Studien nevnte ikke melanocytter spesielt, men fordelingen av dimerer i de forskjellige lagene av epidermis var lik for alle bølgelengder brukt ved bestråling.

Tumorsuppressorgenet p16 og protoonkogenene ras og c-fos er ofte mutert i melanom. (30) Mutasjonene i p16 og ras er vist assosiert med UV-stråling, mens det ikke er funnet noen UV-signatur-mutasjoner i c-fos. B-raf er et annet protoonkogen som ofte er mutert i melanom, men heller ikke her er UV-signatur-mutasjoner påvist. (43) Det er imidlertid vist at mutasjoner i B-raf er hyppigere i hud som har vært intermitterende soleksponert enn i kronisk soleksponert eller lite soleksponert hud. (44) B-raf-mutasjonene kan tenkes å være indirekte forårsaket av UV-stråling, for eksempel gjennom oksidative derivater eller gjennom betennelsesintermediærer i forbindelse med solforbrenning. (45) Thomas et al (46) foreslår på sin side at den vanligste b-raf mutasjonen kan skyldes nærliggende pyrimidindimerer, generert ved UVB-stråling. De påpeker imidlertid at den nåværende kunnskapen ikke kan si med sikkerhet om UV-stråling virkelig er årsaken til b-raf-mutasjoner og heller ikke hvilken strålingstype – UVB eller UVA, som i så fall spiller størst rolle. Hocker og Tsao (47) har i en ny studie også søkt å kartlegge mutasjoner i melanom. De fant blant annet at det var signifikant flere UVB-signaturmutasjoner i tumorsuppressorgenene CDKN2a (koder for p16), PTEN/MMAC1 og TP53 enn i protoonkogenene ras og b-raf. I tillegg fant de at UVB-mutasjoner forekom langt hyppigere i melanom enn i krefttyper utenom huden. Nivået av UVB-mutasjoner i melanom tilsvarte nivået i plateepitelcarcinom. Det ble derimot ikke funnet UVA-signaturmutasjoner i høy grad i noen av de fem hovedloci. Konklusjonen var derfor at

UVB spiller enn signifikant rolle for melanomutvikling, mens UVAs rolle er mer usikker.

I tillegg til forskning på melanocytter og hud fra mennesker, er det utført flere dyrestudier. En mye referert studie benyttet fiskearten *Xiphophorus* som forsøksdyr. (48) Fiskene ble bestrålt med lys med fem ulike bølgelengder (302, 313, 365, 405 og 436nm) og undersøkt for melanom etter fire måneder. Resultatene viste at bølgelengden 302nm var den mest effektive i melanominduksjon, men bølgelengdene innenfor UVA og synlig lys var også betydelig effektive. Siden UVB kun utgjør en liten del av sollyset, estimerte forskerne at 90-95% av sollysets melanominduserende effekt skyldes UVA og synlig lys.

Den første pattedyrmodellen for UV-indusert malignt melanom var pungrotta *Monodelphis domestica*. Man fant at gjentatt UV-eksponering kunne indusere metastaserende melanom utgående fra dermis hos disse dyrene. (49) UV-strålingen var bredspektret og ble gitt i doser på 250J/m² en gang per uke i 70 uker. I en senere studie med *M. domestica* undersøkte man mer spesifikt UVAs evne til å indusere melanocytthyperplasi. (50) En gruppe pungrotter ble eksponert for UVB: 250 J/m², mens en annen gruppe ble bestrålt med UVA: 25 kJ/m². Strålingen ble gitt 3 ganger per uke i 81 uker. Resultatene viste at UVB i mye større grad enn UVA induserte non-melanom hudkreft, mens det ikke ble avdekket noen signifikant forskjell mellom UVAs og UVBs evne til å indusere melanocytthyperplasi. Det ble ikke undersøkt for melanomutvikling i denne studien.

Andre dyremodeller for melanom omfatter blant annet forsøk med hamstre, men hos disse kunne ikke melanom induseres av UV-stråling alene (5,17).

van Schanke et al (51) publiserte i 2005 en studie som gikk ut på å undersøke melanocyttoproliferasjon etter UV-bestråling av hårløse mus. Musene ble bestrålt med enten en enkeltdose eller fraksjonerte doser UVB eller UVA-1(340-400 nm). Studien viste at en enkelt erytematogen dose UVB induserte melanocyttoproliferasjon, mens fraksjonerte suberytematogene doser ikke hadde denne effekten. UVA1-bestråling gav ikke melanocyttoproliferasjon, verken ved enkeltdoser eller fraksjonerte doser. Maksimaldosen UVA som ble gitt tilsvarte over 150% av maksimal daglig dose på en solrik dag nord i Australia.

I transgene musemodeller tilfører man dyrene et eller flere gener som koder for bestemte egenskaper. De første modellene hadde liten overføringsverdi til mennesket, men i de senere årene har forsøk med HGF/SF transgene mus vist melanompatologi som i større grad likner menneskets. (5,17) HGF/SF er et cytokin med mitogene, motogene og morfogene responser. (17) I motsetning til vanlige mus, har HGF/SF-musene melanocytter basalt i epidermis, i tillegg til i dermis. Det er vist at gjentatt UV-bestråling av voksne HGF/SF-transgene mus kan påskynde utvikling av hudkreft, men bare kreft av non-melanom type. (52) En senere studie viser at musene kan utvikle melanom dersom UV-eksponeringen skjer på nyfødt-stadiet. (53) UV-dosen som induserte melanom hos de nyfødte musene i forsøket, tilsvarte 23 standard erytemale doser.

Med den HGF/SF transgene musemodellen åpnet det seg nye muligheter for å undersøke UVAs og UVBs relative effekt i melanominduksjon. I en studie fra 2004 ble nyfødte transgene mus bestrålt med lys av ulike bølgelengdesammensetninger og fra ulike strålekilder. (54) Man fant at bare UVB-holdig lys kunne initiere melanom. Rent UVA-lys initierte ikke melanom, til tross for at dosen som ble gitt var 33 ganger større enn en tydelig potent UVB-dose. Til sammenligning ble forholdet mellom

UVA og UVB i sollys oppgitt å være mellom 16 og 24. Resultatene fra denne studien sto dermed i total motsetning til hva som ble funnet i xiphophorusmodellen.

Hvor mye UV-indusert immunsuppresjon betyr for utviklingen av malignt melanom direkte, har hittil ikke vært tilstrekkelig undersøkt, (17) men noen studier tyder på at det spiller en signifikant rolle. En dyrestudie som understøtter den UV-induserte immunsuppresjonens betydning for tumorveksten ble utført av Donawho og Kripke. (55) De fant at melanom og andre svært immunogene svulster fikk fremmet vekst i UV-bestrålte mus, mens veksten til de mindre immunogene svulstene ikke ble påvirket. Epidemiologiske data viser at kronisk immunsupprimerte i større grad enn andre utvikler melanom. (56,57) Den relative risikoen er estimert til 3,4. (58) Melanom regnes dessuten som en immunogen tumor og ser ut til å respondere på immunbasert terapi. (59)

5.3.2 Epidemiologiske studier

Utbredelsen av PUVA-behandling danner grunnlaget for epidemiologiske studier vedrørende UVA og melanomrisiko. Ved slik behandling gis stoffet psoralen per oralt eller som bad, før huden bestråles med UVA. Psoralen benyttes for å gjøre huden mer følsom for UVAs virkninger. Behandlingen gis først og fremst til psoriasis-pasienter. Stern et al (60) gjennomførte i tidsrommet 1975 til 1997 en kohortstudie på 1380 psoriasis-pasienter behandlet med PUVA. I løpet av de første femten årene, ble fire melanomer oppdaget blant pasientene, noe som svarte til det forventede antallet i befolkningen ellers. Men så, fra 1991 og ut 1996 ble sju nye melanomer diagnostisert. Dette svarte til en femdoblet risiko i forhold til befolkningen. I en oppfølgingsstudie, med observasjoner fra 1999, hadde insidensen og relativ risiko for melanomutvikling steget ytterligere. (61) Resultatene fra den første studien til Stern et al ble imidlertid motsagt av to andre studier, utført på

PUVA-behandlede pasienter i Sverige og Finland. (62,63) Etter oppfølging i gjennomsnittlig 15-16 år, ble det her ikke funnet noen økt risiko for melanomutvikling. Forskningen er altså tvetydig.

Når det gjelder spørsmålet om UVB fototerapi øker risikoen for hudkreft, presenterer Lee E et al (64) en oversikt over litteraturen. Etter å ha gått gjennom 11 studier utført i tidsrommet 1966-2002, fant de ingen relasjon mellom UVB fototerapi og økt hudkreftrisiko. Forfatterne kommenterer imidlertid at få av primærstudiene nevner melanom og at ingen av dem oppgir relativ risiko for melanom etter UVB fototerapi.

To andre epidemiologiske studier tar særlig for seg UVAs og UVBs innvirkning på melanomrisiko. Moan et al (10) presenterer observasjoner som støtter hypotesen om at melanin i øvre lag av epidermis beskytter mot hudkreft, mens melanin i melanocytene virker fotokarsinogent: Forfatterne peker blant annet på at mørkhudete afrikanere har generelt lavere risiko for alle typer hudkreft, men høyere ratio mellom melanom og plateepitelcarcinom enn kaukasere. Albinoafrikanere, derimot, ser ut til å ha relativt mindre risiko for melanom i forhold til annen hudkreft. Et tredje argument for melaninets duale virkning er observasjonen at sol-sensitive mennesker får økt risiko for melanom ved hyppig UV-eksponering, mens de som lett blir brune får redusert risiko. Moan et al påpeker også at den relative gradienten for strålingsintensitet i forhold til breddegrad er større for UVB enn for UVA. (Det vil si at UVB-intensiteten varierer mer i forhold til breddegrad enn hva UVA-intensiteten gjør: UVB-strålingen er langt sterkere ved ekvator enn nærmere polene, mens styrken av UVA-strålingen er mer lik på de forskjellige breddegrader.) Det samme forholdet gjelder for non-melanom- og melanom hudkreft: Forekomsten av non-melanom hudkreft varierer mer i forhold til breddegrad enn hva forekomsten av melanom gjør. Forfatterne mener disse observasjonene er forenlige med at UVB spiller størst rolle for non-melanom hudkreft, mens UVA spiller størst rolle for melanomutvikling. (10)

Garland et al (65) ville i sin studie undersøke om det var UVA, UVB eller ratioen UVA/UVB som best kunne predikere melanom. De samlet inn mortalitetsdata fra 45 land og sammenlignet dem med geografisk bestemt nivå av UVA og UVB. Etter å ha kontrollert for blant annet forskjeller i pigmentering, fant de at kun UVA-nivået hadde en signifikant positiv assosiasjon med melanommortalitet hos menn. Hos kvinner var den tilsvarende assosiasjonen ikke signifikant.

5.4 Bruk av solarium

En rekke epidemiologiske studier har undersøkt for en mulig sammenheng mellom bruk av solarium og utvikling av malignt melanom. De aller fleste har kasus-kontroll-design. Swerdlow og Weinstock (66) skrev i 1998 en oversiktsartikkel hvor de sammenlignet resultatene fra 19 slike studier. Studiene var publisert i ulike land i perioden 1979 til 1995 og varierte en del i metode. Kun seks av dem fant en signifikant positiv assosiasjon mellom bruk av solarium og melanomforekomst. Av disse, kunne de fleste dokumentere en relasjon mellom dose og respons. Det så ut til at risikoen for melanom økte med økende frekvens eller varighet av solariumbruk. Tre av studiene påpekte også en tidsrelasjon: Risikoen for melanom var større der eksponeringen hadde skjedd flere år før diagnosetidspunktet enn der eksponeringen nylig hadde skjedd. Når det gjaldt betydning av alder, fant forfatterne svake, men entydige bevis for at risikoen var størst ved eksponering i ung alder.

Kasus-kontroll studiene er altså mange, men hver for seg har de relativt få studieobjekter og dermed liten statistisk styrke. For å overkomme dette problemet, kunne man tenke seg å se en metaanalyse, som sammenfattet resultatene fra enkeltstudiene. Swerdlow og Weinstock hevdet at en slik metaanalyse ikke kunne gi

pålitelig informasjon, på grunn av for upresis informasjon i primærstudiene. (66) Det gikk da også lang tid før noen gjorde et forsøk på kvantitativ sammenfatning av resultatene. Først i 2005, ble en metaanalyse på risiko for malignt melanom etter solariumbruk publisert. Gallagher et al (13) tok her for seg 9 kasus- kontroll studier og 1 kohortstudie på emnet. Studiene var publisert i tidsrommet 1984 til 2004 og tilfredsstilte disse kriteriene:

- Antall kasus- og kontroll-objekter oppgitt, samt odds ratio og 95% konfidensintervall (95% KI).
- Evaluering av i det minste "aldri" versus "en eller annen gang" bruk av solarium.
- Kun evaluering av ikke-medisinsk bruk av solarium.

7 av primærstudiene var også blant studiene evaluert av Swerdlow og Weinstock.

Det første punktet metaanalysen beskrev, var risikoen for melanom etter å ha brukt solarium en eller annen gang (ever) i forhold til aldri (never) å ha brukt solarium. Samlet odds ratio ble regnet ut til å være 1,25, med 95% KI (1,05-1,49). Den økte risikoen var altså liten, men signifikant. Forfatterne påpekte imidlertid en heterogenitet, - eller ulikhet, mellom effektestimaterne i primærstudiene. Dette kunne skyldes det lange tidsrommet studiene var gjort over og forskjellene i studiedesign. Ved å ekskludere de mest avvikende studiene, ble heterogeniteten noe redusert, men den samlede odds ratio ble lite forandret. Gallagher et al så også på melanomrisikoen hos de som først ble eksponert for solarium som ung voksen. Odds ratio var i dette tilfellet 1,69, med 95% KI (1,32-2,18). Til sist ble tallene for melanomrisiko hos de med lengst varighet eller størst frekvens av eksponering regnet ut. Her ble odds ratio estimert til 1,65 og 95% KI (1,21-2,12). På disse to punktene var ikke heterogenitet noe problem. En av primærstudiene kontrollerte imidlertid ikke for fenotype, så nye tall ble beregnet etter eksklusjon av denne studien. De nye tallene avvek kun i mindre grad fra de opprinnelige.

I 2003 publiserte Veierød et al (67) den første kohortstudien på risikofaktorer for melanom, deriblant solariumbruk. Studien inkluderte hele 106379 norske og svenske kvinner som ved starttidspunktet var i alderen 30 til 50 år. Kvinnene fikk tilsendt et spørreskjema der de blant annet måtte svare på spørsmål om solingsvaner.

Spørsmålene vedrørende solarium dreide seg om hvor ofte de gjennomsnittlig hadde benyttet seg av slik soling i de ulike aldersintervallene 10-19 år, 20-29 år, 30-39 år og 40-49 år. Etter innlevering av skjemaet ble kvinnene fulgt i gjennomsnittlig 8,1 år (fra 1991 til 1999) for observasjon av melanomer. Studien hadde begrenset evne til å undersøke assosiasjon mellom melanomrisiko og solariumbruk i tenårene, fordi få kvinner rapporterte slik eksponering. Imidlertid fant forskerne en signifikant økt risiko for melanom blant kvinnene som hadde brukt solarium minst en gang per måned i alderen 20-29 år. Den relative risikoen var her 2,58 (95% KI = 1,48-4,50). Samlet sett, ved bruk av solarium minst en gang per måned i minst ett av aldersintervallene, var også melanomrisikoen forhøyet. Relativ risiko ble i dette tilfellet beregnet til 1,55 (95% KI = 1,04-2,32) Verdiene ble beregnet ut fra en multivariabel analyse som inkluderte alder, bostedsregion, hårfarge, tidligere solforbrenninger og antall ferieuker med solingsaktivitet.

5.5 Bruk av solkrem

Også sammenhengen mellom solkrembruk og melanomrisiko er grundig studert i epidemiologiske studier. Resultatene er svært sprikende. Fem av oversiktsartiklene og metaanalysene jeg leste presenterte lister med kasus-kontroll studier, valgt ut etter ulike inklusjonskriterier. Til sammen 20 enkeltstudier, publisert mellom 1979 og 2002, ble presentert. Av disse, viste 6 en økt risiko for melanom etter solkrembruk, 7 en redusert risiko, og 7 studier viste ingen signifikant risikoendring.

Huncharek og Kupelnick (68) publiserte i 2002 en metaanalyse på 11 kasus-kontroll studier vedrørende sammenhengen mellom solkrembruk og malignt melanom. Sammenlagt relativ risiko i disse studiene var 1,11, men verdien var ikke signifikant. De 11 studiene ble dessuten funnet å være signifikant heterogene. Det vil si at resultatene var så ulike at de ikke kunne sammenlignes ut fra samme betingelser. Huncharek og Kupelnick skilte deretter mellom studier med et befolkningsbasert utvalg og studier som rekrutterte kontroller fra sykehus. Metaanalyse av 4 studier med befolkningsbasert utvalg (4836 personer) viste ingen signifikant assosiasjon, med relativ risiko på 1,01. Her var variansen lav nok til at resultatet kunne stoles på. De 7 studiene med sykehusbasert utvalg (4231 personer) gav en relativ risiko på 2,41, men disse studiene var svært heterogene og resultatet ble ikke signifikant. Forfatterne konkluderte med at epidemiologiske data ikke støttet en sammenheng mellom solkrembruk og melanom.

En ny metaanalyse ble utført av Dennis et al i 2003. (69) Forfatterne inkluderte 18 studier og den samlede odds ratio ble regnet ut å være 1,0 (95% CI 0,8-1,2). Men, også her ble heterogeniteten blant studiene funnet å være stor. Ved analyse av kun de 13 studiene som kontrollerte for solsensitivitet, ble odds ratio 0,8 (95%CI 0,6-1,0). Analyse av de 5 studiene som kontrollerte for både solsensitivitet og solforbrenninger gav en odds ratio på 0,76(95%CI 0,65-0,90).

6. Diskusjon

6.1 UVA/UVB

Ut fra litteraturen, kan man argumentere for både UVA og UVB som årsaksfaktorer i melanomutvikling. Det ser ut til å være godt dokumentert at begge strålingstyper kan gi opphav til mutasjoner, om enn ved ulike mekanismer. Funn av spesifikke DNA-skader etter henholdsvis UVA- og UVB-bestråling av dyrkede melanocytter in vitro støtter opp om strålenes betydning i å initiere melanom. Også in vivo studiene indikerer at begge stråletyper kan skade melanocyt-DNA. Her er forskerne imidlertid noe uenige. Hocker og Tsao (47) fant som nevnt et høyt nivå av UVB-mutasjoner, men ikke UVA-mutasjoner i kutane melanomer. Lund og Timmins (70) argumenterer derimot for at de fleste mutasjonene i melanom er forårsaket av oksidativt stress, og ikke av UVB. De påpeker at selv om det er funnet antatt UVB-spesifikke mutasjoner i TP53 i kutane melanomer, er slike mutasjoner også påvist i melanomer fra ikke-soleksponerte områder på kroppen. Det taler imot at UVB forårsaker mutasjonene det er snakk om. Uansett kan man fastslå at det, til tross for mye forskning, er påvist relativt få UV-spesifikke mutasjoner i maligne melanomer. Jeg kan tenke meg flere mulige forklaringer på dette: Et alternativ er at UV-strålene forårsaker mutasjoner på andre måter enn de som hittil er kjent, og at disse mekanismene er med på å skape melanomenes genprofil. En annen forklaring kan være at de uavklarte melanommutasjonene skyldes andre faktorer enn UV-stråling. Konklusjonen må bli at så lenge man ikke kjenner opphavet til flere mutasjoner, er det vanskelig å si noe sikkert ut fra basale studier om UVA og UVBs respektive roller som årsak til malignt melanom.

Den i utgangspunktet beste forsøksmetoden for å kartlegge UV-strålings innvirkning på melanocytter, er bestråling av menneskehud in vivo. Men, fordi slike forsøk innebærer en klar kreftrisiko, er dette etisk problematisk. Lang latenstid mellom UV-

bestråling og melanomutvikling hos mennesket begrenser i tillegg bruksverdien. Dyrestudier blir derfor et viktig alternativ. Noonan et al (17) presenterer kriterier for en god melanom-dyremodell:

- Følsomhet for UV eksponering
- Liknende histopatologi og molekylær patogenese som ved melanom hos mennesket.
- Mulighet for genetisk og immunologisk manipulasjon.

På mange områder er dyr og mennesker like, slik at sykdom hos dyr kan gi nyttig informasjon om tilsvarende sykdom hos mennesket. Når det gjelder huden, er det ikke like lett å sammenligne. Mens mennesker har melanocytter i stratum basale i epidermis, er melanocytene hos for eksempel mus hovedsaklig lokalisert til hårfolliklene i dermis.(17) Dessuten er epidermis hos mus mye tynnere enn hos mennesket. Den ulike lokalisasjonen kan tenkes å gi opphav til forskjeller både i absorpsjon av UV-stråler og i vekstmønsteret til et eventuelt melanom. Det finnes dessuten andre celler og stoffer i dermis enn i epidermis – faktorer som kan tenkes å ha betydning for utvikling av melanom. At epidermis er tynnere hos mus, kan påvirke absorpsjonen av UV-stråler ved at strålene går relativt dypere ned i huden.

Forsøksmodellen med HGF/SF transgene mus overkommer noen av problemene med ulik anatomi, siden disse musene har melanocytter også i basale lag av epidermis. Melanomutviklingen tilsvarer dessuten i større grad den hos mennesket. Hvis man derfor velger å stole mest på studier med HGF/SF-mus, tyder kunnskapen på at UVB, men ikke UVA kan initiere melanom. Dette strider, som nevnt, totalt mot resultatene fra xiphophorus-modellen, der man fant at UVA spilte en signifikant rolle i å forårsake melanom. En mulig feilkilde ved musmodellen kan ligge i tidspunktet for UV-eksponering. Det er påpekt at dersom UV-eksponering skjer før melanocytene begynner å uttrykke melanin, uteblir den karsinogene effekten av UVA. (70) Dette kan kanskje forklare hvorfor UVB, men ikke UVA forårsaket melanom hos de nyfødte musene. Når det gjelder xiphophorus-modellen, er ulempen at fisk står langt fra mennesket evolusjonsmessig, slik at man ikke uten videre kan sammenligne patogenesen.

Etablert behandling av psoriasis pasienter med PUVA eller UVB-lys, gir en etisk forsvarlig mulighet til å studere UV-strålers innvirkning på melanomrisiko hos mennesket. De to studiene på PUVA-behandling og melanomrisiko gav motstridende konklusjoner, i og med at Sterns studie konkluderte med økt forekomst av melanom etter PUVA-behandling, mens de svenske studiene ikke påviste noen økt risiko. En forklaring kan være at Stern et al observerte pasientene over en lengre periode: Etter 15 år fant heller ikke Stern økt forekomst av melanom blant PUVA-pasientene, men ved de senere oppfølgingene økte forekomsten drastisk. I de svenske studiene var oppfølgingstiden kun 15 år, slik at melanomene kanskje ikke fikk tid til å utvikle seg. Et problem med PUVA-studiene er at behandlingen ikke består av UVA alene, men inkluderer psoralen. Man kan derfor ikke utelukke at den karsinogene effekten av behandlingen skyldes psoralen. (9,12,66) En annen mulig feilkilde er at psoriasis-pasienter som regel også har fått behandling med tjære, UVB og/eller medikamenter. Flere av behandlingsformene kan tenkes å bidra til kreftutviklingen. Til tross for de mulige feilkildene, taler PUVA-studien for at UVA kan forårsake melanom. Når det gjelder de epidemiologiske studiene på UVB og melanomutvikling, er de for få og mangelfulle til å dra noen konklusjoner ut fra.

Epidemiologisk forskning er ikke egnet til å gi oss detaljert informasjon om patofysiologiske mekanismer. Studietypen er dessuten ofte forbundet med bias og confounding, så årsaksforhold kan ikke beskrives med sikkerhet. (Bias innebærer at det finnes en kilde som gir systematisk feil i studieresultatene. Confounding betyr sammenblanding: en confounder er en variabel som er assosiert både med eksposisjon og utfall og som dermed kan føre til falske resultater.) Også i spørsmålet vedrørende UV-strålings innvirkning på melanomrisiko, har de epidemiologiske studiene sine begrensninger. Studiene til Moan et al og Garland et al gir for eksempel ikke mulighet til kontroll for individuelle atferdsmønstre som ferieopphold ved andre breddegrader, kunstig soling, kost etc. Kontroll for hudtype ble kun gjort på

landsbasis og kan også utgjøre en feilkilde. Allikevel gir de epidemiologiske studiene en verdifull pekepinn på årsakssammenhenger, og i følge studiene til både Moan et al og Garland et al ser det ut til at UVA er den strålingstypen som har størst betydning for melanomutvikling hos mennesket.

Solforbrenning anses, som nevnt, å være risikofaktor for malignt melanom. (6) Et problem er at begrepet ”solforbrenning” er vanskelig å definere. De fleste epidemiologiske studier baseres på spørreskjemaer, der forsøkspersonene selv angir tidligere solforbrenninger. Ulik oppfatning om hva som defineres som solforbrenning, kan tenkes å gi opphav til falske resultater.

Forsøk har vist at UVB er den stråletypen som er mest potent til å gi solforbrenning. (71) Det at solforbrenning er assosiert med malignt melanom, kan dermed brukes som argument for at UVB forårsaker melanom.

6.2 Solariebruk

Ut fra de presenterte kasus-kontroll studiene, ser det ut til at kunstig soling medfører en moderat økt risiko for melanom, at risikoen er størst ved eksposisjon i ung alder og at det eksisterer et dose-respons forhold. Men, vi må være forsiktige med å fremme resultatene som sannheter, for som forfatterne av de fleste oversiktsartiklene kommenterer (12,14,13,66), er primærstudiene beheftet med mange feilkilder.

Som nevnt, ble strålingsspekteret i kunstige UV-kilder endret rundt 1980, fra å inneholde en stor andel UVB-stråler til nesten utelukkende å inneholde UVA-stråler. Siden strålingsspektret i høyeste grad kan ha betydning for karsinogeniteten, bør vi

kun bruke data som gjelder solariumbruk etter 1980 når vi vurderer melanomrisiko ved moderne solarier. Mange av kasus-kontroll studiene er imidlertid gamle og omhandler først og fremst eksponering fra UVB-rike solarier. Et annet problem er at nesten ingen studier beskriver strålingsspektrum og intensitet. Det er derfor vanskelig å beregne nøyaktig risiko for melanomutvikling ved bruk av en bestemt type solarium. Den manglende spesifiseringen av strålespektrum fører også til at studiene ikke kan gi detaljert informasjon om aksjonsspektret for melanom.

Dersom vi utelukkende ser på data med eksponering etter 1980, dukker et nytt problem opp; nemlig at det kreves en viss latenstid mellom eksponering og melanomutvikling. De som først nylig har benyttet solarium, vil ikke ha rukket å utvikle melanom. Dermed kan vi bare få nøyaktig informasjon fra eksponering som har skjedd innenfor et relativt smalt tidsrom.

Mange av primærstudiene skiller bare mellom aldri å ha benyttet solarium og en eller annen gang å ha benyttet solarium ("never" vs "ever"). Dette gir unøyaktige resultater, fordi "ever"-gruppen er svært bred, med variasjon i eksponering fra nær ingenting til meget hyppig bruk. Swerdlow og Weinstock påpeker at i flere av deres inkluderte studier hadde "ever"- gruppen stort sett få eksponeringer. En slik fordeling vil lett føre til underestimering av risiko. Oppdeling i never og ever er også problematisk med tanke på at man ikke vet når eventuelle eksponeringer har funnet sted. Dersom eksponeringene har skjedd i nær fortid, vil personene ikke ha rukket å utvikle melanom. Også denne faktoren vil dra i retning av en underestimering av risiko. (14)

Kasus-kontroll studier er retrospektive, i og med at kasus-personene *etter* å ha fått diagnosen blir intervjuet angående mulige årsaksfaktorer og så sammenlignet med

kontroller. En slik metode er utsatt for recall-bias. (66) Det vil si at personene som er diagnostisert trolig er mer oppmerksomme på tidligere risikoatferd og dermed vil ha lettere for å gjengi eksposisjoner enn kontrollene. Slik bias kan føre til overestimering av risiko. At studieobjektene må gjengi eksposisjon langt tilbake i tid kan dessuten gi generelt unøyaktige resultater. (66)

Utvalget i kasus-kontroll studiene kan også være beheftet med bias. Autier (14) påpeker i en oversiktsartikkel at noen av studiene valgte ut kontrollpersoner fra sykehusavdelinger eller poliklinikker. Man kan tenke seg at disse personene hadde sykdommer som gjorde det enten mer eller mindre sannsynlig at de bedrev innendørs eller utendørs soling.

Ytterligere en feilkilde som må tas hensyn til i studier på årsakssammenhenger er confounding. I studiene vedrørende solariumbruk og melanomrisiko er for eksempel annen UV-eksponering en slik confounder. De ivrigste brukerne av solarium utsetter seg sannsynligvis også for mer UV-stråling ved utendørs soling enn folk flest gjør. Dermed kan mye av en påvist sammenheng mellom solariumbruk og melanom i virkeligheten skyldes utendørs soling. Andre confoundere kan være solsensitivitet eller sosioøkonomisk status. (66) For at resultatene skal bli til å stole på, må forskere helst kontrollere for slike faktorer. Swerdlow og Weinstock nevner at det kun i fire av studiene de vurderte var kontrollert for soleksponering.

Kohortstudien til Veierød et al overkommer mange av feilkildene ved kasus kontroll studiene. Siden spørreskjemaet ble fylt ut før eventuell melanomdiagnose, unngikk man problemet med recall bias. Studien gav dessuten mulighet for å se isolert på assosiasjonen mellom bruk av moderne solarier og utvikling av melanom. En tredje fordel var at både alder, solsensitivitet og soleksponering ble kontrollert for ved

utregning av relativ risiko. Veierøds studie gir dermed pålitelig støtte til konklusjonen om at solariumbruk øker risikoen for melanom og at eksponering i ung alder ser ut til å gi størst risikoøkning. Siden moderne solarier i hovedsak utstråler UVA, tyder resultatene på en signifikant rolle for UVA i melanomutvikling.

6.3 Solkremer

Metaanalysene av solkremstudier gav tall som tydet på at solkrembruk verken øker eller reduserer risikoen for melanomutvikling. Men, enkeltstudiene hadde svært ulike resultater, noe som gjør det vanskelig å konkludere sikkert, selv ved hjelp av metaanalyser.

En rekke begrensninger og feilkilder er heftet ved solkremstudiene. For eksempel har noen av studiene valgt ut kontrollpersoner blant besøkende på hudklinikken. Disse kan tenkes å ha en økt forekomst av hudkreft i forhold til befolkningen ellers. (72) I så tilfelle blir resultatene utsatt for bias. En annen svakhet er at flere studier ikke kontrollerer for solsensitivitet og allerede ervervete solskader. (69,72,73) De som har mest solsensitiv hud, har i utgangspunktet økt risiko for å utvikle melanom, samtidig som de kan forventes å bruke mer solkrem enn de med mindre sensitiv hud. På den måten kan det virke som det er solkrembruken som gir økt melanomrisiko, mens det kanskje egentlig er hudtypen. Tilsvarende confounding omfatter skader som solforbrenninger – de er identifisert som risikofaktor for melanom og kan samtidig føre til økt bruk av solkrem. En tredje confounder kan være soleksponering, i og med at de som er mest ute i sola også er de som bruker mest solkrem. (72,73)

Designen på kasus-kontroll studier gjør dem utsatt for upålitelige resultater, fordi det er vanskelig for forsøkspersonene å gjengi tidligere solingsatferd nøyaktig. Dessuten

kan man tenke seg en mulig bias i økt rapportering av tidligere solkrembruk blant melanompasienter. (69,73) Et annet designproblem er at melanom har svært lang induksjonstid, slik at effekten av nyproduserte solkremer først kan fastslås mange år etter bruk. (69,72,73) Det er også verdt å påpeke at hvordan man bruker solkrem varierer mye fra person til person og er vanskelig å kartlegge nøyaktig. (69) De fleste studiene skiller kun mellom «ever og never» bruk av solkrem og ikke mellom de ulike bruksmønstre i ever-gruppen. For eksempel er type solkrem (faktor, beskyttelse mot UVB og/eller UVA, fysisk eller kjemisk beskyttelse), hyppighet og tykkelse av påsmørning og varighet av bruk utilstrekkelig beskrevet. (73)

Enkeltstudiene vedrørende solkrembruk og melanomutvikling har i varierende grad tatt hensyn til de mulige feilkildene, noe som kan forklare heterogeniteten i resultatene. Dessuten kan geografiske faktorer som høyde over havet, breddegrad og tykkelse av ozonlaget slå forskjellig ut, avhengig av lokalisasjon for studiene. (72)

Publikasjonsbias, det vil si at studier med en viss konklusjon har størst sjanse for å bli publisert, kan være aktuelt for solkremstudiene. Weinstock (73) hevder denne biasen drar i retning av at studier som viser positiv assosiasjon mellom solkrembruk og melanom er mest attraktive å publisere. Autier (14) mener derimot at studier som viser negativ assosiasjon i større grad blir publisert. Hvem som har rett, er vanskelig å avgjøre.

En teori for hvorfor bruk av solkrem muligens kan øke risikoen for melanomutvikling, er nevnt i flere artikler. Teorien bygger på at solkremer beskytter langt bedre mot UVB- enn mot UVA-stråler og dermed forskyver strålingsspektret som når huden i retning av UVA. UVB er hovedansvarlig for solforbrenninger og er som nevnt kjent å forårsake ikke-melanom hudkreft. Av den grunn er solkremer som

reduserer UVB-bestråling å anbefale. Men UVB har også en gunstig funksjon, i og med at den forsterker hudens naturlige beskyttelse ved å gjøre den tykkere og mer pigmentert ("hardening of the skin"). Uten denne beskyttelsen, kan UVA lettere trenge gjennom til hudens basallag og danne mutasjoner der. Videre er det et poeng at personer som soler seg, gjerne vil være ute i sollyset så lenge som mulig uten å bli brent. Det kan da tenkes at man ved solkrembruk kompensere for UV-beskyttelsen ved å eksponere seg i desto lenger tid. På den måten blir man utsatt for omtrent den samme dosen UVB som om man hadde solt seg uten solkrem, mens UVA-dosen øker. Teorien har støtte i en studie utført av Haywood et al (74) og publisert i 2003. De undersøkte tre solkremer med bredspektret beskyttelse og fant at kremer med solfaktor 20, hadde en tilsvarende beskyttelsesfaktor mot UVA på 2. Solfaktor (SPF) beskriver hovedsaklig UVB-beskyttelsen, siden faktoren er definert som hvor mange ganger lenger man kan være ute i sola uten å bli brent. UVA-faktoren ble beregnet ut fra reduksjon i dannelsen av frie radikaler.

Forskyvningsteorien er interessant dersom UVA-eksponering viser seg å være hovedårsaken til melanomutvikling. I så fall kan man tenke seg tilfeller der solkrembruk bør frarådes. Det gjelder særlig i situasjoner der solkrembruk fører lengre soleksponering. I situasjoner med konstant eksponeringsvarighet, derimot, vil bruk av solkrem fortsatt være tilrådelig, fordi det reduserer den totale strålingsdosen av både UVA og UVB. Et eksempel kan være personer som har sitt arbeid utendørs og dermed er eksponert for sol i et bestemt tidsrom, uavhengig av solkrembruk.

Forutsetningene for i visse tilfeller å fraråde solkrembruk, er at forskyvningsteorien stemmer; at solkrem virkelig beskytter bedre mot UVB enn mot UVA og at UVA er karsinogent. Det er mulig at nyere solkremer har en mer balansert UV-beskyttelse enn kremene som er studert hittil og at strålespekteret dermed ikke endres ved

solkrembruk. Ytterligere forskning er nødvendig. Inntil videre bør man fortsette å bruke solkrem, men begrense tiden man oppholder seg ute i sola.

6.4 Problemer med sammenligning

Å sammenligne studiene som tar for seg relasjonen mellom UV-stråling og malignt melanom er vanskelig. I de basale studiene har forskerne benyttet ulike strålekilder. Strålespekteret er forskjellig og ikke alltid klart definert. Strålingsdosen er også varierende og det brukes forskjellige mål for virksomme doser. Noen studier bruker standard erytem doser (SED), mens andre bruker J/m^2 . Dosen som er nødvendig for å gi en effekt, varierer dessuten mellom ulike arter og mellom ulike hudtyper. I de epidemiologiske studiene er det umulig å fastslå nøyaktig stråledose og strålingsspektrum. Felles for studiene er at mange variabler påvirker eksposisjon og utfall, og det er vanskelig å holde alle andre faktorer enn det man studerer konstant.

7. Konklusjon

UV-stråling kan føre til malignt melanom. Denne litteraturstudien tyder på at både UVA og UVB er av betydning.

8. Referanser

- 1) Fakta om hudkreft. Oslo: Kreftregisteret.
<http://www.kreftforeningen.no/vp/template/ver1-0/print.jsp?articleId=2082§ionId=47> Avlesningsdato: 16.09.06
- 2) Cancer in Norway 2005. Oslo: Kreftregisteret
http://www.kreftregisteret.no/forekomst_og_overlevelse_2005/cin2005.pdf
Avlesningsdato: 11.07.2007
- 3) Malignt melanom. Norsk elektronisk legehåndbok. www.legehandboka.no
Avlesningsdato: 11.07.2007
- 4) Tucker MA, Goldstein AM. Melanoma etiology: where are we? *Oncogene* 2003;22:3042-52.
- 5) Berking C. The role of ultraviolet irradiation in malignant melanoma. *Hautarzt* 2005;56:687-96.
- 6) Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer*. 1997;73:198-203.
- 7) Ultrafiolett (UV) stråling. Oslo: Statens strålevern, 2006.
<http://www.stralevernet.no/index.asp?startID=&topExpand=&subExpand=&strUrl=//applications/system/publish/view/showobject.asp?infoobjectid=1000160&menuid=1000107> Avlesningsdato: 07.10.06
- 8) Naturlige kilder. Oslo: Statens strålevern, 2006.
<http://www.stralevernet.no/index.asp?strUrl=1000591i&topExpand=&subExpand=> Avlesningsdato: 07.10.06
- 9) Wang SQ, Setlow R, Berwick M, Polsky D, Marghoob AA, Kopf AW et al. Ultraviolet A and melanoma: a review. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:837-46.
- 10) Moan J, Dahlback A, Setlow RB. Epidemiological support for an hypothesis for melanoma induction indicating a role for UVA radiation. *Photochem Photobiol* 1999;70:243-7.
- 11) UV, sol og solarier. Oslo: Statens strålevern, 2006.
<http://www.stralevernet.no/index.asp?strurl=//applications/system/publish/view/showObject.asp?infoobjectid=1000596> Avlesningsdato: 05.02.07
- 12) Abdulla FR, Feldman SR, Williford PM, Krowchuk D, Kaur M. Tanning and skin cancer. *Pediatr. Dermatol* 2005;22:501-12.
- 13) Gallagher RP, Spinelli JJ, Lee, TK. Tanning beds, sunlamps, and risk of cutaneous malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:562-6.
- 14) Autier P. Cutaneous malignant melanoma: facts about sunbeds and sunscreens. *Expert Rev Anticancer Ther* 2005;5:21-23.
- 15) Pfeifer GP, You, YH, Besaratinia A. Mutations induced by ultraviolet light. *Mutat Res* 2005;571:19-31.
- 16) Young AR. Tanning devices-fast track to skin cancer? *Pigment Cell Res* 2004;17:2-9.

- 17) Noonan FP, Dudek J, Merlino G, De Fabo EC. Animal models of melanoma: an HGF/SF transgenic mouse model may facilitate experimental access to UV initiating events. *Pigment Cell Res* 2003;16:16-25.
- 18) Ichihashi M, Ueda M, Budiyo A, Bito T, Oka M, Fukunaga M et al. UV-induced skin damage. *Toxicology* 2003;189:21-39.
- 19) Schwarz T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression. *Keio J Med*. 2005;54:165-71.
- 20) Toews GB, Bergstresser PR, Streilein JW. Epidermal Langerhans cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin painting with DNFB. *J Immunol* 1980;124:445-53.
- 21) Noonan FP, De Fabo EC, Kripke ML. Suppression of contact hypersensitivity by ultraviolet radiation: an experimental model. *Springer Semin Immunopathol* 1981;4:293-304.
- 22) Murphy GM, Norris PG, Young AR, Corbett MF, Hawk JL. Low-dose ultraviolet-B irradiation depletes human epidermal Langerhans cells. *Br J Dermatol* 1993;129:674-7.
- 23) Stingl LA, Sauder DN, Iijima M, Wolff K, Pehamberger H, Stingl G. Mechanism of UV-B-induced impairment of the antigen-presenting capacity of murine epidermal cells. *J Immunol* 1983;130:1586-91.
- 24) Kripke ML, Cox PA, Alas LG, Yarosh DB. Pyrimidine dimers in DNA initiate systemic immunosuppression in UV-irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:7516-20.
- 25) Phan TA, Halliday GM, Barnetson RS, Damian DL. Spectral and dose dependence of ultraviolet radiation-induced immunosuppression. *Front Biosci* 2006;11:394-411.
- 26) Nishigori C, Yarosh DB, Ullrich SE, Vink AA, Bucana CD, Roza L, Kripke ML. Evidence that DNA damage triggers interleukin 10 cytokine production in UV-irradiated murine keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:10354-9.
- 27) Vink AA, Moodycliffe AM, Shreedhar V, Ullrich SE, Roza L, Yarosh DB, Kripke ML. The inhibition of antigen-presenting activity of dendritic cells resulting from UV irradiation of murine skin is restored by in vitro photorepair of cyclobutane pyrimidine dimers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:5255-60.
- 28) Vink AA, Shreedhar V, Roza L, Krutmann J, Kripke ML. Cellular target of UVB-induced DNA damage resulting in local suppression of contact hypersensitivity. *J Photochem Photobiol B* 1998;44:107-11.
- 29) Photocarcinogenesis: Role of cyclobutane pyrimidine & 6-4 pyrimidone dimers. St Edward's Computer Science.
<http://www.cs.stedwards.edu/chem/Chemistry/CHEM43/CHEM43/Photocarcino/Function.html> Avlesningsdato: 05.09.07
- 30) Hussein MR. Ultraviolet radiation and skin cancer: molecular mechanisms. *J Cutan Pathol* 2005;32:191-205.
- 31) Lindskog BI: Gyldendals store medisinske ordbok. 2. utg. ISBN 82-05-32870-6, Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS; 2003.

-
- 32) Wenczl E, Van der Schans GP, Roza L, Kolb RM, Timmerman AJ, Smit NP et al. (Pheo)melanin photosensitizes UVA-induced DNA damage in cultured human melanocytes. *J Invest Dermatol* 1998;111:678-82.
 - 33) Drobetsky EA, Turcotte J, Chateaufneuf A. A role for ultraviolet A in solar mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:2350-4.
 - 34) Besaratinia A, Synold TW, Xi B, Pfeifer GP. G-to-T transversions and small tandem base deletions are the hallmark of mutations induced by ultraviolet A radiation in mammalian cells. *Biochemistry* 2004;43:8169-77.
 - 35) Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E. Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation. *Biochemistry* 2003;42:9221-6.
 - 36) Barker D, Dixon K, Medrano EE, Smalara D, Im S, Mitchell D et al. Comparison of the responses of human melanocytes with different melanin contents to ultraviolet B irradiation. *Cancer Res.* 1995;55:4041-6.
 - 37) Smit NP, Vink AA, Kolb RM, Steenwinkel MJ, van den Berg PT, van Nieuwpoort F et al. Melanin offers protection against induction of cyclobutane pyrimidine dimers and 6-4 photoproducts by UVB in cultured human melanocytes. *Photochem Photobiol* 2001;74:424-30.
 - 38) Berking C, Takemoto R, Satyamoorthy K, Elenitsas R, Herlyn M. Basic fibroblast growth factor and ultraviolet B transform melanocytes in human skin. *Am J Pathol.* 2001;158:943-53.
 - 39) Berking C, Takemoto R, Satyamoorthy K, Shirakawa T, Eskandarpour M, Hansson J et al. Induction of melanoma phenotypes in human skin by growth factors and ultraviolet B. *Cancer Res* 2004;64:807-11.
 - 40) Marrot L, Belaidi JP, Meunier JR, Perez P, Agapakis-Cause C. The human melanocyte as a particular target for UVA radiation and an endpoint for photoprotection assessment. *Photochem Photobiol* 1999;69:686-93.
 - 41) Young AR, Potten CS, Nikaido O, Parsons PG, Boenders J, Ramsden JM et al. Human melanocytes and keratinocytes exposed to UVB or UVA in vivo show comparable levels of thymine dimers. *J Invest Dermatol* 1998;111:936-40.
 - 42) Burren R, Scaletta C, Frenk E, Parnizzon RG, Applegate RA. Sunlight and carcinogenesis: expression of p53 and pyrimidine dimers in human skin following UVA I, UVA I + II and solar simulating radiations. *Int J Cancer* 1998;76:201-6.
 - 43) Perlis C, Herlyn M. Recent advances in melanoma biology. *Oncologist* 2004;9:182-7.
 - 44) Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T et al. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1878-90.
 - 45) Dhomen N, Marais R. New insight into BRAF mutations in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2007;17:31-9.
 - 46) Thomas NE, Berwick M, Cordeiro-Stone M. Could BRAF mutations in melanocytic lesions arise from DNA damage induced by ultraviolet radiation? *J Invest Dermatol* 2006;126:1693-6.
 - 47) Hocker T, Tsao H. Ultraviolet radiation and melanoma: a systematic review and analysis of reported sequence variants. *Hum Mutat* 2007;28:578-88.

- 48) 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.
- 49) Ley RD, Applegate LA, Padilla RS, Stuart TD. Ultraviolet radiation--induced malignant melanoma in *Monodelphis domestica*. *Photochem Photobiol* 1989;50:1-5.
- 50) Ley RD. Ultraviolet radiation A-induced precursors of cutaneous melanoma in *Monodelphis domestica*. *Cancer Res* 1997;57:3682-4.
- 51) van Schanke A, Jongsma MJ, Bisschop R, van Venrooij GM, Rebel H, de Gruijl FR. Single UVB overexposure stimulates melanocyte proliferation in murine skin, in contrast to fractionated or UVA-1 exposure. *J Invest Dermatol* 2005;124:241-7.
- 52) Noonan FP, Otsuka T, Bang S, Anver MR, Merlino G. Accelerated ultraviolet radiation-induced carcinogenesis in hepatocyte growth factor/scatter factor transgenic mice. *Cancer Res* 2000;60:3738-43.
- 53) Noonan FP, Recio JA, Takayama H, Duray P, Anver MR, Rush WL et al. Neonatal sunburn and melanoma in mice. *Nature* 2001;413:271-2.
- 54) De Fabo EC, Noonan, FB, Fears T, Merlino G. Ultraviolet B but not ultraviolet A radiation initiates melanoma. *Cancer Res*. 2004;64:6372-6.
- 55) Donawho CK, Kripke ML. Evidence that the local effect of ultraviolet radiation on the growth of murine melanomas is immunologically mediated. *Cancer Res* 1991;51:4176-81.
- 56) Lévêque L, Dalac S, Domp Martin A, Louvet S, Euvrard S, Catteau B et al. Melanoma in organ transplant patients. *Ann Dermatol Venereol* 2000;127:160-5. NB: Kun lest abstrakt, pga franskspråklig artikkel
- 57) Ceballos PI, Ruiz-Maldonado R, Mihm MC Jr. Melanoma in children. *N Engl J Med* 1995;332:656-62.
- 58) Gjersvik PJ: Dermatological complications of immunosuppression in kidney and heart transplant recipients. Oslo, 2000.
- 59) Kim CJ, Dessureault S, Gabrilovich D, Reintgen DS, Slingluff CL. Immunotherapy for melanoma. *Cancer Control*. 2002;9:22-30.
- 60) Stern RS, Nichols KT, Vakeva LH. Malignant melanoma in patients treated for psoriasis with methoxsalen (psoralen) and ultraviolet A radiation (PUVA). The PUVA Follow-Up Study. *N Engl J Med* 1997;336:1041-5.
- 61) Stern RS, PUVA Follow up Study. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:755-61.
- 62) Hannuksela-Svahn A, Sigurgeirsson B, Pukkala E, Lindelöf B, Berne B, Hannuksela M et al. Trioxsalen bath PUVA did not increase the risk of squamous cell skin carcinoma and cutaneous malignant melanoma in a joint analysis of 944 Swedish and Finnish patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 1999;141:497-501.
- 63) Lindelöf B, Sigurgeirsson B, Tegner E, Larkö O, Johannesson A, Berne B et al. PUVA and cancer risk: the Swedish follow-up study. *Br J Dermatol* 1999;141:108-12.
- 64) Lee E, Koo J, Berger T. UVB phototherapy and skin cancer risk: a review of the literature. *Int J Dermatol* 2005;44:355-60.

-
- 65) Garland CF, Garland FC, Gorham ED. Epidemiologic evidence for different roles of ultraviolet A and B radiation in melanoma mortality rates. *Ann Epidemiol* 2003;13:395-404.
 - 66) Swerdlow AJ, Weinstock MA. Do tanning lamps cause melanoma? An epidemiologic assessment. *J Am Acad Dermatol* 1998;38:89-98.
 - 67) Veierød MB, Weiderpass E, Thörn M, Hansson J, Lund E, Armstrong B et al. A prospective study of pigmentation, sun exposure, and risk of cutaneous malignant melanoma in women. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1530-8.
 - 68) Huncharek M, Kupelnick B. Use of topical sunscreens and the risk of malignant melanoma: a meta-analysis of 9067 patients from 11 case-control studies. *Am J Public Health* 2002;92:1173-7.
 - 69) Dennis LK, Beane Freeman LE, VanBeek MJ. Sunscreen use and the risk for melanoma: a quantitative review. *Ann Intern Med.* 2003;139:966-78.
 - 70) Lund LP, Timmins GS. Melanoma, long wavelength ultraviolet and sunscreens: controversies and potential resolutions. *Pharmacol Ther.* 2007;114:198-207.
 - 71) McKinlay AF, Diffey BL. A reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin. *CIE J* 1987;6:17-22.
 - 72) Ivry GB, Ogle CA, Shim EK. Role of sun exposure in melanoma. *Dermatol Surg* 2006;32:481-92.
 - 73) Weinstock MA. Do sunscreens increase or decrease melanoma risk: an epidemiologic evaluation. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999;4:97-100.
 - 74) Haywood R, Wardman P, Sanders R, Linge C. Sunscreens inadequately protect against ultraviolet-A-induced free radicals in skin: implications for skin aging and melanoma? *J Invest Dermatol* 2003;121:862-8.

