



Università del Piemonte Orientale
"Amedeo Avogadro"
Dipartimento di Scienze Mediche

"Dottorato in Medicina Molecolare"

XXV Ciclo di Dottorato

*"Studio di associazione tra alcuni polimorfismi del gene XRCC1
e il rischio di mesotelioma maligno della pleura
nell'ambito di uno studio caso-controllo di popolazione"*

Relatore:

Prof. Corrado Magnani

Co-Relatore:

Prof. Umberto Dianzani

Candidata:

Marina Padoan

Anno accademico 2009 – 2010

Indice

| | | |
|--|------|----|
| Abstract | pag. | 3 |
| Introduzione | pag. | 4 |
| Obiettivi | pag. | 8 |
| Materiali & Metodi | pag. | 10 |
| Risultati | pag. | 14 |
| Conclusioni & Discussione & Sviluppi Futuri | pag. | 16 |
| Riferimenti Bibliografici | pag. | 18 |
| Altri progetti in corso | pag. | 26 |
| Elenco dei congressi e delle relative comunicazioni | pag. | 27 |
| Elenco pubblicazioni su riviste internazionali | pag. | 28 |
| Elenco dei corsi frequentati | pag. | 28 |
| Elenco dei seminari frequentati | pag. | 28 |

Indice delle Tabelle

| | | | |
|----------|--|------|----|
| 1 | <i>Polimorfismi di XRCCI</i> | pag. | 9 |
| 2 | <i>Descrizione del campione</i> | pag. | 14 |

Indice delle Figure

| | | | |
|----------|---|------|---|
| 1 | <i>Polimorfismi di XRCCI</i> | pag. | 9 |
|----------|---|------|---|

Abstract

Il presente lavoro si basa su uno studio caso-controllo sul mesotelioma maligno della pleura (MM) su base di popolazione condotto nell'area dell'ex-ASL 21 (Casale Monferrato e Valenza), dove, dal 1907 al 1986 è stata attivo lo stabilimento Eternit, la più grande industria italiana del cemento-amianto.

I casi di MM, residenti alla diagnosi nell'ASL di riferimento, sono stati istologicamente confermati nel periodo 1.1.2001-31.12.2006. I casi sono stati rilevati presso i Servizi di Anatomia Patologica, Pneumologia, Oncologia, Medicina, Chirurgia toracica e Radioterapia. La diagnosi è stata definita su prelievo ottenuto durante biopsia in pleuroscopia o a seguito di intervento chirurgico.

I controlli sono stati selezionati casualmente dalla popolazione residente nell'ASL21 e sono stati appaiati ai casi per sesso, data di nascita (+/- 18 mesi).

I casi ed i controlli sono stati valutati sia per l'esposizione ad amianto sia per la presenza di dodici polimorfismi del gene XRCC1, che codifica per una proteina coinvolta nel processo di restauro del DNA danneggiato causato dalla presenza delle fibre di amianto.

Le informazioni circa l'eventuale esposizione ad asbesto e ad altri fattori di interesse sono state ottenute tramite un'intervista diretta o indiretta attraverso il familiare più prossimo, previo consenso informato utilizzando un questionario standardizzato.

Tutti i soggetti sono stati caratterizzati per la loro esposizione occupazionale, ambientale e/o domestica all'asbesto con il contributo di un igienista industriale.

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare il ruolo dei polimorfismi analizzati del gene XRCC1 nello sviluppo di mesotelioma maligno in una popolazione esposta ad alti livelli di un noto fattore genotossico, quale l'amianto.

Introduzione

E' oggi universalmente riconosciuto il fatto che l'amianto sia uno dei materiali a più elevata pericolosità biologica fra quelli presenti negli ambienti di vita e di lavoro.

E' una pericolosità che si esprime in gravi quadri patologici respiratori associata alla dose di esposizione (asbestosi), e alla probabilità di contrarre determinate patologie tumorali maligne, in seguito ad esposizioni anche limitate in termini di entità e durata.

Il mesotelioma maligno (MM) è un tumore maligno che può colpire le membrane sierose di rivestimento dei polmoni (pleura) e degli organi addominali (peritoneo).

In letteratura sono stati descritti casi di mesotelioma tra i minatori e le persone residenti intorno a miniere di crocidolite (una tipologia di amianto) in Sudafrica (*Kielkowski et al. 2000*), nelle città sede di insediamenti industriali con lavorazioni dell'amianto (*Magnani et al. 2001*), in familiari venuti in contatto con le polveri accumulate sulle tute di lavoratori direttamente esposti (*Ferrante et al. 2007*). L'esistenza di mesoteliomi nei residenti e nei familiari mostra che possono essere pericolose anche esposizioni a basse concentrazioni di asbesto. In genere il tempo di latenza (ovvero il tempo che intercorre tra l'esposizione ad amianto e la comparsa della malattia) è dell'ordine di decenni e può anche superare i 40 anni dall'inizio dell'esposizione (*Magnani et al. 2007; Marinaccio et al. 2007*).

Le malattie principali che possono essere provocate dall'asbesto sono:

- asbestosi;
- mesotelioma;
- carcinomi polmonari;
- tumori del tratto gastro-intestinale, della laringe e di altre sedi

Alcuni autori hanno ipotizzato come fattore eziologico dell'insorgenza della patologia non la sola esposizione ad amianto, ma anche il ruolo di fattori genetici implicati nei meccanismi di restauro dei danni ossidativi del DNA determinati dalla presenza delle fibre di amianto.

Nonostante l'asbesto sia un cancerogeno completo, non è stato ancora chiarito definitivamente il meccanismo attraverso il quale induca il mesotelioma. Allo stato attuale si ritiene che l'amianto possa indurre mesotelioma attraverso un processo infiammatorio dovuto all'accumulo di fibre nella pleura. Si ritiene che le fibre di amianto siano cancerogene tramite differenti meccanismi: attraverso la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS, *reactive oxygen species*) o dalla stessa superficie delle fibre a seguito di reazioni che coinvolgono il ferro come catalizzatore o per effetto della fagocitosi frustrata (*Chen et al. 1996, Fung et al. 1997*).

Le fibre che riescono a raggiungere gli alveoli polmonari hanno lunghezze inferiori a 200 micron e diametri inferiori a 3 micron, tra queste, le fibre che non vengono espulse o comunque neutralizzate dall'organismo (azione dei macrofagi), sono quelle di lunghezza maggiore di 5 micron che mantengono un rapporto tra la lunghezza e il diametro > 3 .

Le fibre di questa classe dimensionale possono, con il tempo, insinuarsi profondamente nel tessuto polmonare e raggiungere la pleura.

Una volta inalate, tutte le particelle, a seconda della loro dimensione e struttura, penetrano e si depongono nel sistema respiratorio. Le fibre inoltre tendono a disporsi parallelamente alla direzione del flusso aereo, giungendo fino agli alveoli.

Solo le fibre depositate nel polmone profondo innescano i meccanismi biocellulari determinanti l'alveolite e la reazione fibrotica polmonare. Qualora le fibre riescano a raggiungere il cavo pleurico eserciteranno in quella sede l'azione irritante o cancerogena.

Alle fibre più lunghe si riconosce comunque un maggior potere fibrogeno, in quanto esse non potendo essere fagocitate dai macrofagi, tendono a permanere indefinitamente nel polmone profondo.

Diverse caratteristiche delle fibre d'asbesto possono essere responsabili dei loro effetti genotossici su certi tipi cellulari.

Anche la quantità di ferro contenuta nelle fibre ha un ruolo centrale: infatti, in presenza di perossido di idrogeno il ferro può generare radicali ossidrilici altamente reattivi secondo la reazione di Haber-Weiss. Le ROS possono causare perossidazione dei lipidi, rotture nel DNA, modificazioni delle basi puriniche e pirimidiniche (*Wang et al. 1998*).

Per esempio, le fibre d'anfibolo hanno un alto contenuto in ferro che può generare, in lunghi periodi di tempo, specie reattive dell'ossigeno (ROS) attraverso reazioni catalizzate dal ferro sulla superficie della fibra che è situata all'interno del polmone.

Le dimensioni delle fibre sono molto importanti nella mutagenesi: le fibre di grosse dimensioni, infatti, vengono fagocitate in modo incompleto provocando un drammatico *burst* respiratorio con esocitosi dei ROS (fagocitosi frustrata).

Le ROS possono essere anche generate durante i tentativi di fagocitosi delle lunghe fibre d'asbesto e la distruzione dei macrofagi. Al contrario, le fibre d'asbesto corte possono essere fagocitate con successo ed incorporate nei lisosomi. Questo fenomeno potrebbe spiegare in parte perché le fibre lunghe e sottili, cioè $> 8\mu\text{m}$ in lunghezza, sono più cancerogene una volta inalate o iniettate nella pleura o nel peritoneo dei roditori.

Attualmente si ritiene che la tumorigenicità delle lunghe fibre di amianto, ad elevato contenuto di ferro, sia dovuta anche alla capacità dei macrofagi di produrre citochine e fattori di crescita che promuovono la progressione neoplastica delle cellule mesoteliali.

Utilizzando colture cellulari sono stati dimostrati altri indicatori di danno genetico, come alterazioni cromosomiche, alterazioni della progressione del ciclo cellulare, formazione di cellule aneuploidi o poliploidi e distruzioni dei nuclei da parte delle fibre lunghe (Cuggell et al. 2004).

Molti geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo degli agenti tossici o cancerogeni sono polimorfici determinando differenze individuali nel rischio di cancro (Neri et al. 2005).

I polimorfismi genetici più frequenti nel genoma umano sono variazioni di un singolo nucleotide (single nucleotide polymorphisms, SNPs) che sono spesso utilizzati come indicatori molecolari utili a predire le variazioni individuali nella risposta a composti esogeni tossici o cancerogeni.

Un polimorfismo a singolo nucleotide è un polimorfismo (cioè una variazione a livello di una sequenza di acidi nucleici) che si presenta tra individui della stessa specie, caratterizzata da una differenza a carico di un unico nucleotide.

Numerosi studi hanno identificato diversi polimorfismi (SNPs) in geni coinvolti nella riparazione del DNA per escissione di una base (BER), per escissione di nucleotidi (NER), per ricombinazione e in geni deputati al controllo del ciclo cellulare. Questi polimorfismi possono alterare l'efficienza di tali sistemi soprattutto se si trovano in domini con un importante significato funzionale e se portano alla sostituzione non conservativa di un amminoacido (Shen et al. 1998).

Al fine di ricercare i possibili fattori genetici che possono interessare lo sviluppo di una patologia tumorale, una delle possibili strategie è la ricerca di "geni candidati". La ricerca di geni suscettibili alla malattia può avvenire in due modi: l'approccio di ricerca di una possibile associazione tra un allele e la malattia e l'analisi di linkage che consiste nell'analisi di co-segregazione degli alleli di diversi marcatori all'interno di una famiglia di individui.

In particolare il gene candidato nel nostro studio è stato **XRCC1** (*X-ray repair cross-complementing group 1*), gene coinvolto nel restauro dalle rotture del danno al DNA determinate dalle specie reattive dell'ossigeno, dalle radiazioni ionizzanti o dagli agenti alchilanti. XRCC1 possiede tre diversi domini attraverso i quali interagisce con tre diversi enzimi: poli (ADP-ribosio) polimerasi (PARP), DNA ligasi III e DNA polimerasi β ; contiene due domini BRCT: BRCT1 nella regione centrale della proteina e BRCT2 nella regione carbossi-terminale.

Tale gene è già stato studiato in letteratura (Dianzani et al. 2006).

XRCC1 non ha attività enzimatica propria, ma agisce come proteina scaffold, legando questi 3 enzimi ed avvicinandoli al sito del DNA interessato dal danno.

Si ritiene che XRCC1 intervenga nel formare il complesso multiproteico deputato al restauro del DNA.

XRCC1 è un intermediario che consente alla DNA ligasi III ed alla DNA polimerasi β di interagire direttamente; infatti attraverso la regione amino-terminale si lega alla polimerasi β , mentre attraverso il dominio BRCT situato nella regione C-terminale si lega con la ligasi III.

Tre differenti polimorfismi (R194W, R280H e R399Q) a livello di questo gene sono associati ad un'alterata capacità di riparare il danno al DNA e al rischio di insorgenza del cancro (*Zhou et al. 2003*).

Studi recenti hanno evidenziato che il polimorfismo 399Q, situato nel dominio BRCT centrale contenente il sito di legame per PARP, è associato ad una minor efficienza di restauro del DNA, come dimostrato dalla persistenza di addotti (*Matullo et al. 2001b*), dall'aumentata sensibilità alla bleomicina (*Wang et al. 2003*), dall'incremento di glicoforina A mutata a livello delle membrane di eritrociti (*Lunn et al. 1999*).

Lo studio di *Hou et al. 2003* ha evidenziato un'elevata incidenza di cancro al polmone, alla testa e al collo, tra i portatori della variante 399Q.

Tuttavia, altri studi, non hanno evidenziato un'associazione tra la variante XRCC1-399Q e l'aumento dell'incidenza del tumore al polmone (*Ratnasinghe et al. 2001*) e neppure associazione con la presenza di addotti nel DNA (*Matullo et al. 2001 a*).

Obiettivi

Lo scopo dello studio è stato valutare l'associazione tra insorgenza di mesotelioma maligno della pleura e alcuni polimorfismi di uno dei geni facenti parte del sistema di restauro del DNA attivato dal danno ossidativo.

Il danno ossidativo causato dalle fibre d'amianto è stato infatti dimostrato sia *in vitro* che *in vivo*: le sue principali conseguenze sono la rottura del singolo filamento di DNA e/o una modificazione di una singola base del DNA (*Landi et al. 2007, Dianzani et al. 2006, Burmeister et al. 2004, Marczyński et al. 2000, Fung et al. 1997, Chen et al. 1996*).

Il gene preso in considerazione è XRCC1, riportato in letteratura come gene associato ad alcuni tipi di tumore e/o a ridotta efficienza del meccanismo di restauro del DNA, (*Ho et al. 2009, Kiran et al. 2009, Bewick et al. 2009*).

I principali meccanismi di restauro sono: BER (base excision repair), NER (il nucleotide excision repair), la riparazione per reversione diretta, la riparazione di errori di appaiamento (mismatch repair) e la riparazione per ricombinazione.

XRCC1 è un gene coinvolto nel restauro delle rotture e del danno al DNA determinati dalle specie reattive dell'ossigeno e in particolare interviene nella correzione di singole basi danneggiate (BER) e nel restauro di rotture della doppia elica.

In particolare sono stati considerati dodici polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nel gene XRCC1. L'ipotesi principale è che la presenza di uno di questi polimorfismi possa ridurre la capacità dell'organismo di rispondere al danno ossidativo causato dalla presenza delle fibre di amianto determinando un sistema di restauro non perfettamente funzionante, in questo caso le mutazioni indotte dall'amianto non verrebbero corrette portando alla comparsa di mutazioni e all'inizio del processo di carcinogenesi, determinando l'insorgenza del tumore pleurico.

I polimorfismi di XRCC1 presi in considerazione sono:

| N° (5'-3') | dbSNPs id | SNP | Frequenza Allelica |
|------------|------------|----------------------|--------------------|
| 1 | rs3213245 | -77 T>C | T:0.78 C:0.22 |
| 2 | rs3213247 | IVS2+874 G>T | G:0.96 T:0.04 |
| 3 | rs12973352 | IVS2+5570 G>A | G:0.98 A:0.02 |
| 4 | rs2854496 | IVS2+11417 G>A | G:0.85 A:0.15 |
| 5 | rs2307174 | EX3 E50E G>A | G:0.98 A:0.03 |
| 6 | rs2023614 | IVS3+14745 C>G | G:0.92 C:0.08 |
| 7 | rs1799778 | IVS3+20469 C>A | C:0.60 A:0.40 |
| 8 | rs3213356 | IVS4+21371 A>G | A:0.58 G:0.42 |
| 9 | rs1799782 | EX6 C>T (R194W) | C:0.91 T:0.09 |
| 10 | rs 25487 | EX10 G>A (R399Q) | G:0.40 A:0.60 |
| 11 | rs3213371 | IVS10+24552 C>G | G:0.97 C:0.03 |
| 12 | rs3213403 | STOP+764 A>G (3'UTR) | A: 0.91 G:0.09 |

Tabella 1.0 - Identificativi dei polimorfismi di XRCC1 e loro frequenza allelica (PubMed) -

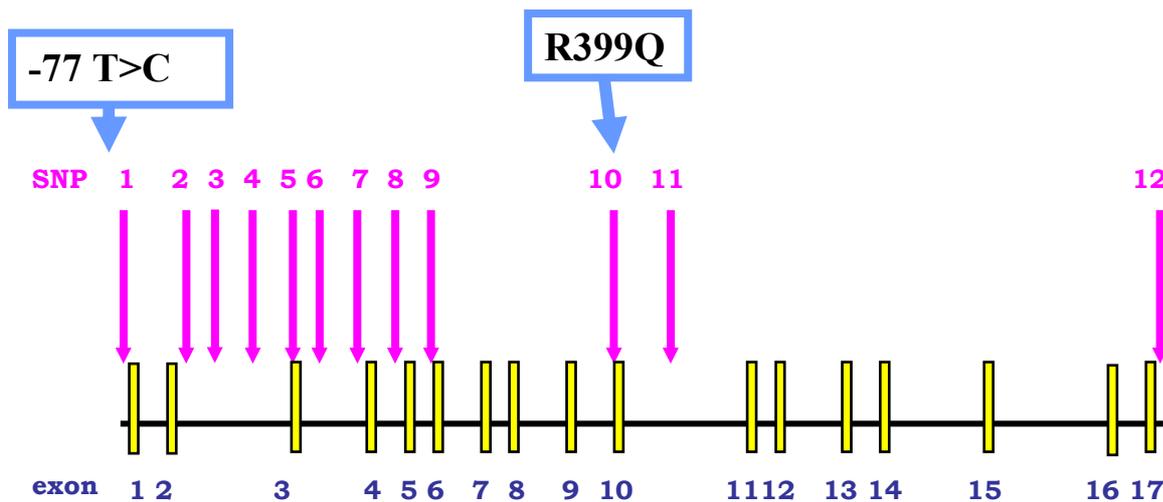


Figura 1.0 - Polimorfismi di XRCC1 e relativa localizzazione -

Materiali & Metodi

E' stato condotto uno studio caso-controllo di popolazione sul mesotelioma maligno della pleura, nell'area dell'ex-ASL 21 (territorio di Casale Monferrato e Valenza) giustificato dalla presenza a Casale Monferrato dello stabilimento Eternit, il maggiore produttore di manufatti in cemento-amianto in Italia (*Magnani et al. 2001*).

Lo stabilimento della ditta "Eternit" di Casale Monferrato, si estendeva su un'area di circa 94.000 m² di cui 50.000 circa coperti (con lastre di fibrocemento). E' stato in funzione dal 1907 al 1986, producendo lastre piane ed ondulate, tubi per canne fumarie e tubi per condutture ad alta pressione in cemento-amianto.

La fabbrica utilizzava sia crisotilo sia crocidolite di diverse provenienze. La ditta ha riferito che nel 1981 sono state utilizzate complessivamente 15000 tonnellate di amianto: la crocidolite rappresentava circa il 10% dell'amianto totale e veniva prevalentemente impiegata nella fabbricazione dei tubi ad alta pressione, che corrispondevano nello stesso periodo al 20% della produzione.

La concentrazione ambientale di amianto è stata valutata prima della chiusura dello stabilimento e in tempi successivi ma mai è avvenuta negli anni '50 e '60, durante i periodi di maggiore attività della fabbrica. I dati a disposizione sulla concentrazione ambientale delle fibre di amianto a Casale hanno evidenziato un elevato livello di esposizione ambientale (*Chiappino et al. 1991; Marconi et al. 1989*).

L'area di Casale Monferrato è stata interessata da numerosi studi epidemiologici.

Un primo studio riguardante la coorte dei dipendenti Eternit di Casale Monferrato (*Magnani et al. 2007*) ha evidenziato un incremento della mortalità per tumore polmonare pleurico, peritoneale e per asbestosi e per le donne un aumento della mortalità per tumore dell'ovaio e dell'utero.

Un secondo studio riguardante la coorte delle mogli dei dipendenti dello stabilimento Eternit (*Ferrante et al. 2007*) con esposizione indiretta ad amianto derivante dal contatto con le tute da lavoro dei mariti, ha rilevato un aumento della mortalità per tumore pleurico.

Uno studio caso-controllo condotto nell'area dell'ASL 21 (*Magnani et al. 2001*) ha evidenziato un aumento del rischio tra i residenti a Casale Monferrato la cui abitazione si trovava in prossimità dello stabilimento Eternit. Di recente è stato pubblicato uno studio basato sugli stessi dati sulla valutazione spaziale del rischio di patologia nell'area di Casale Monferrato (*Maule et al. 2007*).

La rilevazione dei casi di MM è avvenuta presso i Presidi Ospedalieri dell'ex A.S.L. 21, le Cliniche private nello stesso territorio e Ospedali di rilievo per la diagnosi e la terapia del mesotelioma in

Piemonte ed in altre Regioni. Per verificare l'esaustività della rilevazione dei casi sono state controllate le Schede di Dimissione Ospedaliera della Regione Piemonte.

I casi di MM, residenti alla diagnosi nell'ex-ASL 21 (Casale Monferrato e Valenza), sono stati istologicamente confermati nel periodo 1.1.2001-31.12.2006. I casi sono stati rilevati presso i Servizi di Anatomia Patologica, pneumologia, oncologia, medicina, chirurgia toracica e radioterapia. La diagnosi è stata definita su prelievo ottenuto durante biopsia in pleuroscopia o a seguito di intervento chirurgico.

I controlli sono un campione casuale della popolazione residente nell'ASL 21, appaiati ai casi per sesso e data di nascita (+/- 18 mesi). Per ridurre la variabilità all'interno delle classi più giovani, il rapporto di proporzionalità è stato di 2 controlli per caso per i soggetti con età superiore ai 60 anni e di 4 controlli per caso per i soggetti con età inferiore ai 60 anni. I rifiuti non sono stati sostituiti.

A tutti i casi e i controlli è stato assegnato uno specifico numero identificativo.

Le procedure di campionamento sono state effettuate dal Servizio di Statistica Medica dell'Università degli Studi del Piemonte Orientale "Amedeo Avogadro" di Novara.

Sia i casi che i controlli sono stati sottoposti ad un'intervista, in modo diretto o indiretto attraverso il familiare più prossimo, previo consenso informato da parte del soggetto interessato.

E' stato utilizzato un questionario standardizzato comprendente approfondite sezioni riguardanti caratteristiche demografiche, storia occupazionale e residenziale, attività del tempo libero, storia clinica del soggetto e breve anamnesi lavorativa dei famigliari conviventi.

Le informazioni circa l'eventuale esposizione ad asbesto e ad altri fattori di interesse sono state ottenute tramite l'intervista al soggetto.

Tutti i soggetti sono stati caratterizzati per la loro esposizione occupazionale, ambientale e/o domestica all'asbesto con il contributo di un igienista industriale.

Per esposizione professionale si intende l'esposizione derivante dal fatto di aver svolto un'attività lavorativa implicante l'uso/esposizione ad amianto o a materiali contenenti amianto. Per esposizione domestica si intende il fatto di aver convissuto con soggetti esposti professionalmente ad amianto. Per esposizione ambientale si intende un tipo di esposizione in cui i soggetti hanno vissuto in vicinanza di insediamenti produttivi che lavoravano o utilizzavano amianto o materiali contenenti amianto.

Nelle analisi statistiche non si sono effettuate distinzioni per tipologia di esposizione ma è stata considerata la classificazione di soggetto "esposto" (soggetto caratterizzato da almeno una tipologia di esposizione) e di soggetto "non esposto" (non è stato attribuito alcun tipo di esposizione sulla base delle informazioni ricavate dal questionario sottoposto).

L'analisi degli SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) è stata effettuata a partire da campioni di sangue periferico (10 ml) in EDTA, raccolti tra i casi ed i controlli dello studio condotto, e inviati presso il Dipartimento di Scienze Mediche di Novara. E' stata effettuata l'estrazione di DNA da sangue periferico, la quantificazione del DNA, l'elettroforesi su gel d'agarosio e l'amplificazione mediante PCR (*Polymerase Chain Reaction*) seguita dalla purificazione del prodotto di PCR. Condizione necessaria per il prelievo è che sia stato dato il consenso informato allo studio, in particolare alla sua sezione genetica.

L'analisi dei polimorfismi è stata effettuata con tecniche diverse:

- Sequenziamento
- SNaPshot

Per quanto riguarda i polimorfismi XRCC1-R399Q e XRCC1-77T>C, è stata utilizzata la tecnica SNaPshot, mentre per i rimanenti 10 polimorfismi, riportati nel database di Hapmap www.hapmap.org che permette di individuare "blocchi di aplotipi", ovvero successioni di alleli, associati sullo stesso cromosoma, è stata applicata la tecnica TaqMan.

Attraverso l'analisi degli aplotipi ci si propone di valutare, non il solo il singolo polimorfismo, ma eventuali combinazioni alleliche che potrebbero contribuire al rischio d'insorgenza del mesotelioma maligno pleurico, nella popolazione in studio.

E' stata effettuata l'analisi polimorfica per alcuni campioni del gene XRCC1, mediante sequenziamento, in modo tale di poter disporre di campioni con genotipizzazione nota (un omozigote per l'allele *wild-type*, un eterozigote e un omozigote per l'allele variante) da usare come controllo positivo nelle reazioni di primer extension e di SNaPshot.

L'analisi degli aplotipi è stata effettuata a seguito dell'analisi degli SNP mediante tecnica TaqMan. Le tecniche citate sono state applicate nel laboratorio di Patologia Genetica, del Dipartimento di Scienze Mediche di Novara, dell'Università del Piemonte Orientale, dalla Dott. Marta Betti, collaboratrice della Prof. Irma Dianzani.

Al fine di valutare l'associazione tra un singolo SNP e la patologia (MM) è stato utilizzato un modello di regressione logistico. La regressione logistica è un caso particolare di modello lineare generalizzato avente come funzione link la funzione logit. Si tratta di un modello di regressione applicato nei casi in cui la variabile dipendente y sia di tipo dicotomico (caso o controllo).

Sono stati calcolati i valori di odds ratio (OR) e il relativo intervallo di confidenza (I.C.95%), ottenuto applicando il modello di regressione logistica per ogni singolo SNPs aggiustato per età, sesso ed esposizione ad amianto per tutti i soggetti, e aggiustato per età e sesso tra i soli soggetti esposti.

Sono stato considerati i modelli di ereditarietà codominante (omozigoti wild-type, eterozigoti e omozigoti varianti) e dominante (eterozigoti e omozigoti varianti vs omozigoti wild type) ed è stato inoltre considerato l'aumento del rischio all'aumentare del numero di alleli varianti (modello continuo).

Le analisi sono state effettuate sia per tutti i soggetti sia per il gruppo dei soli esposti ad amianto.

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il programma **SAS** v.8.01 e il pacchetto applicativo specifico **SNPassoc**, del software R, (*Gonzalez et al. 2007*).

Il pacchetto SAS è stato utilizzato per la fase di preparazione dei dati per la conduzione delle specifiche analisi genetiche.

Per l'analisi degli aplotipi è stato utilizzato il pacchetto "**Haplo Stats**" del software R.

L'analisi degli aplotipi è stata effettuata aggiustando i valori sia per età che per sesso.

Risultati

Le analisi statistiche sono state condotte sui soggetti che hanno accettato di fornire un campione di sangue: 151 casi (rispondenza pari a 57% del totale dei casi) e 252 controlli (rispondenza pari a 46% del totale dei controlli).

I soggetti classificati come esposti all'asbesto sono stati 131 casi e 194 controlli (per 18 soggetti non è stato possibile attribuire l'esposizione).

Nella tabella sottostante (*Tabella 2.2*) è stata descritta la composizione del campione in studio.

| | Casi | % | Controlli | % |
|-------------------------------------|-----------------|----------|------------------|----------|
| <i>Sesso</i> | | | | |
| Maschi | 101 | 67% | 173 | 69% |
| Femmine | 50 | 33% | 79 | 31% |
| Totale | 151 | 100% | 252 | 100% |
| | | | | |
| Età (media \pm DevStd) | 66.8 \pm 11.5 | | 61.7 \pm 11.1 | |
| | | | | |
| <i>Tipologia esposizione</i> | | | | |
| Occupazionale | 71 | 47% | 111 | 44% |
| Domestica | 26 | 17% | 24 | 10% |
| Ambientale | 34 | 23% | 59 | 23% |
| Non esposto | 2 | 1% | 58 | 23% |
| Non valutabile | 18 | 12% | 0 | -- |
| Totale | 151 | 100% | 252 | 100% |
| | | | | |

Tabella 2 - Descrizione del campione -

I maschi costituiscono il 67% dei casi e il 69% dei controlli. L'età media è di circa 67 anni per i casi e 62 anni per i controlli. La maggiore parte dei soggetti, inclusi nell'analisi, presenta un'esposizione di tipo occupazionale ad amianto (47% dei casi e 44% dei controlli). L'esposizione ambientale riguarda il 23% dei casi e il 23% dei controlli. Solo 2 sono i casi non esposti. Per il 12% dei casi non è stato possibile determinare la tipologia di esposizione in quanto l'intervista non era disponibile. Il 71% dei casi e il 31% dei controlli risiedeva a Casale Monferrato alla diagnosi (*Dati non mostrati in tabella*).

Tra i soggetti esposti ad amianto, la variante XRCC1-399Q ha evidenziato un incremento statisticamente significativo del rischio all'aumentare del numero di alleli varianti (per ogni allele: OR = 1.44; IC95% 1.02-2.03). L'OR è aumentato sia negli eterozigoti R/Q (OR = 1.45; IC95% 0.89-2.38) che negli omozigoti Q/Q (OR = 2.05; IC95% 0.97-4.35) rispetto agli omozigoti R/R. Quando gli eterozigoti R/Q sono stati considerati insieme agli omozigoti Q/Q (rispetto agli omozigoti R/R), tra i soli esposti ad amianto, l'associazione è risultata al limite della significatività statistica (OR = 1.56; IC95% 0.98-2.50).

L'analisi effettuata su tutti i soggetti, esposti e non esposti, ha evidenziato un incremento del rischio all'aumentare del numero di alleli varianti (per ogni allele: OR = 1.36; IC95% 0.97-1.91). Il valore di odds ratio rilevato quando gli eterozigoti R/Q sono stati considerati insieme agli omozigoti Q/Q (rispetto agli omozigoti R/R) è stato pari a 1.44 (IC95% 0.91-2.29).

Tra gli aplotipi più frequenti, l'analisi ha evidenziato un'associazione significativa per l'aplotipo TGGGGGAACAGA Vs CGGAGGCGCGGA.

Il primo aplotipo descritto, include l'allele T di XRCC1-77 e l'allele di rischio A di XRCC1-399Q. L'allele C in posizione -77 nel promotore di XRCC1, ha una maggiore affinità con il repressore trascrizionale Sp1 rispetto all'allele T nella stessa posizione, (*Hao et al. 2006*); una delle ipotesi è quindi che l'allele T porti ad una ridotta affinità del fattore trascrizionale Sp1 nel promotore di XRCC1 e quindi ad un'aumentata espressione della proteina 399Q, portando di conseguenza ad una ridotta attività di restauro dei danni ossidativi.

Discussione & Conclusioni & Sviluppi futuri

Il cancro è una malattia multifattoriale in cui sono coinvolti sia fattori ambientali che genetici. Il mesotelioma maligno della pleura, in particolare, è un tumore associato ad un importante fattore ambientale, l'esposizione all'amianto.

In letteratura alcuni autori hanno ipotizzato come fattore eziologico di MM non la sola esposizione ad amianto, ma anche il ruolo di fattori genetici implicati nei meccanismi biologici di restauro dei danni ossidativi determinati dalle fibre di amianto a livello del DNA (*Dianzani et al. 2006*).

L'ipotesi dello studio si basa sul fatto che, tra i soggetti esposti all'amianto, quelli che presentano sistemi di restauro del DNA meno efficienti possano presentare un rischio maggiore di sviluppare il MM.

I campioni di sangue sono stati raccolti nell'ambito di uno studio caso-controllo di popolazione. Si è deciso di limitare la raccolta dei campioni alla popolazione di Casale Monferrato e alle zone limitrofe. Questa popolazione, infatti, risulta particolarmente esposta ai danni determinati dall'amianto, poiché a Casale Monferrato è stato operante fino al 1986 un amianto-cementificio. Gli operai della fabbrica presentano altissimo rischio di sviluppare il mesotelioma; ciò è vero anche per le loro mogli, esposte agli indumenti inquinati (*Ferrante et al. 2007*), e persino per tutti gli abitanti della città in rapporto alla distanza della loro abitazione dal cementificio (*Magnani et al. 1993, 2000; Maule et al. 2007*).

Dati riscontrati sulla popolazione di quest'area hanno evidenziato che i lavoratori del cementificio hanno una probabilità di 30-35 volte superiore rispetto alla popolazione del Piemonte di sviluppare il mesotelioma e di 50 volte superiore rispetto alla popolazione rurale. Inoltre, è stato osservato che per i residenti in Casale Monferrato il rischio di insorgenza del tumore aumenta di 15-25 volte a seconda della distanza delle loro abitazioni dal cementificio (*Maule et al. 2007*).

Le analisi statistiche sono state condotte su 403 soggetti e su un sottogruppo di soggetti con esposizione all'asbesto (325).

Nell'ambito di questo studio caso-controllo di popolazione, sono stati analizzati dodici polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) del gene XRCC1, noto in letteratura per essere associato ad alcuni tipi di cancro.

Si tratta di polimorfismi molto frequenti nella popolazione caucasica e alcuni di essi sono già stati associati ad un incremento del rischio per altri tumori o ad una ridotta funzionalità dei meccanismi di riparazione del DNA in vari studi (*Hung et al. 2005*).

I nostri risultati hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa tra la variante XRCC1-399Q e l'insorgenza del MM della pleura nei soggetti esposti all'amianto. Il rischio aumenta significativamente con l'aumentare del numero di alleli polimorfici (alleli varianti), mostrando una sorta di dose-effetto.

In letteratura esistono diversi studi epidemiologici che riportano un'associazione tra il polimorfismo R399Q e la predisposizione genetica al cancro.

In particolare, XRCC1-399Q è stato associato ad alcuni tipi di tumore: carcinoma a cellule squamose della testa e del collo (*Sturgis et al. 2002*), cancro dello stomaco (*Shen et al. 2000*), carcinoma polmonare (*Divine et al. 2001*) e cancro della vescica (*Matullo et al. 2001 a, Shen et al. 2003*). Tale associazione viene meno per altri tipi di tumore: XRCC1-399Q non sembra giocare un ruolo importante nel carcinoma mammario (*Duell et al. 2001, Smith et al. 2003, Shu et al. 2003*), nel cancro della prostata (*Rybicki et al. 2004*) e nel linfoma maligno (*Matsuo et al. 2004*).

La variante XRCC1-R399Q non sembra essere una fattore rilevante per il tumore della mammella in uno studio caso-controllo condotto da *Shu et al. 2003* e in uno studio di *Deligezer et al. 2004*. Tale variante risulta essere un fattore di rischio per tale tipo di tumore solo tra le donne fumatrici in uno studio condotto da *Patel et al. 2005*.

Un potenziale ruolo di tale variante sul rischio di tumore alla vescica è riportato in uno studio caso-controllo di *Kelsey et al. 2004*.

La variante non sembra associata all'insorgenza del tumore gastrico (*Lee et al. 2002*), e sembra giocare un ruolo importante nel tumore della cervice in uno studio condotto da *Huang et al 2007*.

E' possibile che l'associazione tra un polimorfismo genico e una malattia sia il risultato di un *linkage disequilibrium* tra un marker allelico e un allele predisponente la malattia. Il *linkage disequilibrium* solitamente riflette l'origine storica di una mutazione a livello di uno specifico cromosoma indicando un caratteristico set di combinazioni alleliche.

Il polimorfismo XRCC1-399Q potrebbe essere in *linkage disequilibrium* con un altro polimorfismo nello stesso gene direttamente associato con il mesotelioma. Per questo motivo, abbiamo esteso l'analisi ad altri siti polimorfici di XRCC1.

L'analisi degli aplotipi ha mostrato un aumento del rischio di MM tra i soggetti con l'allele T di XRCC1-77 e l'allele di rischio A di XRCC1-399Q.

In letteratura da *Hao et al. (2006)* mostra che l'allele C in posizione -77 nel promotore di XRCC1, ha una maggiore affinità con il repressore trascrizionale Sp1 rispetto all'allele T nella stessa posizione. La nostra ipotesi è che l'allele T porti a ridotta affinità del fattore trascrizionale Sp1 nel promotore di XRCC1 e quindi ad un'aumentata espressione della proteina 399Q, e di conseguenza ad una ridotta attività di restauro dai danni ossidativi.

In conclusione, il nostro lavoro mostra un'associazione tra un polimorfismo del gene XRCC1, coinvolto nel restauro del DNA e il mesotelioma maligno della pleura.

L'identificazione dei genotipi a rischio può permettere:

- una miglior stima del rischio in merito all'esposizione all'amianto;
- un miglioramento delle conoscenze sui meccanismi di cancerogenesi dell'asbesto;
- l'identificazione precoce della malattia nei soggetti ad alto rischio.

Infine, questo progetto ci ha permesso di allestire una genoteca unica in Europa di casi una patologia rara come il mesotelioma pleurico e relativi controlli, provenienti da un'area caratterizzata da elevata esposizione all'amianto, per i quali l'esposizione è stata accuratamente valutata. A nostra conoscenza, una simile banca dati non è mai stata allestita fino ad ora e potrà permettere nel tempo la raccolta di notevoli informazioni di carattere genetico ed epidemiologico.

Sono attualmente in corso estrazioni di DNA e di RNA da tessuti pleurici, per la valutazione dell'espressione del gene XRCC1 e uno studio di associazione sul genoma (GWAS) tramite piattaforma Illumina con chip 370 K, per valutare la suscettibilità genetica al MPM in un ampio numero di pazienti e di controlli.

Riferimenti Bibliografici

Bewick MA., Conlon MS., Laffrenie RM., **“Haplotypes of XRCC1 and survival outcome in patients with metastatic breast cancer”**; *Breast Cancer Res Treat.*; 2009; **117**:667-9.

Burmeister B., Schwerdtle T., Poser I., Hoffmann E., Hartwig A., Muller WU., Rettenmeier AW., Seemayer NH., Dopp E., **“Effects of asbestos on initiation of DNA damage, induction of DNA-strand breaks, P53-expression and apoptosis in primary, SV40-transformed and malignant human mesothelial cells”**, *Mutat Res.*; 2004; **558**: 81-92.

Chen Q., Marsh J., Ames B., Mossman B., **“Detection of 8-oxo-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage, in culture medium from human mesothelial cells exposed to crocidolite asbestos”**; *Carcinogenesis*; 1996; **17**: 2525-7.

Chiappino G., Sebastien P., Todaro A., **“Atmospheric asbestos pollution in the urban environment: Milan, Casale Monferrato, Brescia, Ancona, Bologna and Florence”**; *Med Lav.*;1991; **82**: 424-38.

Cugell DW., Kamp DW., **“Asbestos and the pleura: a review”**; *Chest*; 2004; **125**: 1103-17

Deligezer U., Dalay N., **“Association of the XRCC1 gene polymorphisms with cancer risk in Turkish breast cancer patients”**; *Exp Mol Med.*; 2004; **36**: 572-5.

Dianzani I., Gibello L., Biava A., Giordano M., Bertolotti M., Betti M., Ferrante D., Guarrera S., Betta GP., Mirabelli D., Matullo G., Magnani C., **“Polymorphisms in DNA repair genes as risk factors for asbestos-related malignant mesothelioma in a general population study”**; *Mutat Res.*; 2006; **599**: 124-34.

Divine KK., Gilliland FD., Crowell RE., Stidley CA., Bocklage TJ., Cook DL., Belinsky SA., **“The XRCC1 399 glutamine allele is a risk factor for adenocarcinoma of the lung”**; *Mutat Res.*; 2001; **461**: 273-8.

Duell E. J., Millikan R. C., Pittman G. S., Winkel S., Lunn R. M. Tse C. K., Eaton A., Mohernweiser H.W., Newman B., Bell D.A. **“Polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 and breast cancer”**; *Cancer Epidemiol Biomar.*; 2001; **10**: 217-22.

Ferrante D., Bertolotti M., Todesco A., Mirabelli D., Terracini B., Magnani C., **“Cancer Mortality and Incidence of Mesothelioma in a Cohort of Wives of Asbestos Workers in Casale Monferrato, Italy”**; *Environ Health Perspect.*; 2007, **115**: 1401-1405.

Fung H., Kow YW., Van Houten B., Mossman BT., **“Patterns of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in DNA and indications of oxidative stress in rat and human pleural mesothelial cells after exposure to crocidolite asbestos”**; *Carcinogenesis*; 1997; **18**: 825-32.

González JR., Armengol L., Solé X., Guinó E., Mercader JM., Estivill X., Moreno V., **“SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies”**; *Bioinformatics*; 2007; **23**: 654-655.

Hao B., Miao X., Li Y., Zhang X., Sun T., Liang G., Zhao Y., Zhou Y., Wang H., Chen X., Zhang L., Tan W., Wei Q., Lin D., He F., **“A novel T-77C polymorphism in DNA repair gene XRCC1 contributes to diminished promoter activity and increased risk of non-small cell lung cancer”**; *Oncogene*; 2006; **25**: 3613-20.

Ho T., Li G., Lu J., Zhao C., Wei Q., Sturgis EM., **“Association of XRCC1 polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinoma: a case-control analysis”**; *Thyroid.*; 2009; **19**: 129-35.

Hou S. M., Ryk C., Kannio A., Angelini S., Falt S., Nyberg F., **“Husgafvel-Pursiainen K. Influence of common XPD and XRCC1 variant alleles on p53 mutation in lung tumors”**; *Environ. Mol. Mutagen.*; 2003; **41**: 37-42.

Huang J., Ye F., Chen H., Lu W., Xie X., **“The nonsynonymous single nucleotide polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 and susceptibility to the development of cervical carcinoma and high-risk human papillomavirus infection”**; *Int J Gynecol Cancer*; 2007; **17**: 668-75.

Hung J., Brennan P., Canzian F., Szeszenia-Dabrowska N., Zaridze D., Lissowska J., Rudnai P., Fabianova E., Mates D., Foretova L., Janout V., Bencko V., Chabrier A., Borel S., Hall J., Boffetta P., **“Large-scale investigation of base excision repair genetic polymorphism and lung cancer risk in a multicenter study”**; *J. Natl. Cancer I.*; 2005; **97**:567-76.

Kelsey KT., Park S., Nelson HH., Karagas MR., **“A population-based case-control study of the XRCC1 Arg399Gln polymorphism and susceptibility to bladder cancer”**; *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*; 2004; **13**: 1337-41.

Kielkowski D., Nelson G., Rees D., **“Risk of mesothelioma from exposure to crocidolite asbestos: a 1995 update of a South African mortality study”**; *Occup. Environ. Med.*; 2000; **57**: 563-567.

Kiran M., Saxena R., Chawla YK., Kaur J., **“Polymorphism of DNA repair gene XRCC1 and hepatitis-related hepatocellular carcinoma risk in Indian population”**; *Mol Cell Biochem.*; 2009; **327**: 7-13.

Landi S., Gemignani F., Neri M., Barale R., Bonassi S., Bottari F., Canessa PA., Canzian F., Ceppi M., Filiberti R., Ivaldi GP., Mencoboni M., Scaruffi P., Tonini GP., Mutti L., Puntoni R., **“Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1 and manganese superoxide dismutase are associated with the risk of malignant pleural mesothelioma”**; *Int J Cancer*; 2007; **120**: 2739-43.

Lee SG., Kim B., Choi J., Kim C., Lee I., Song K., **“Genetic polymorphisms of XRCC1 and risk of gastric cancer”**; *Cancer Lett.*; 2002; **187**:53-60.

Lunn R.M., Langlois R.G., Hsieh L.L., Thompson C.L., Bell D.A., **“XRCC1 polymorphism: effects on aflatoxin B₁-DNA adducts and glycophorin A variant frequency”**; *Cancer Res.*; 1999; **59**: 2557-61.

Magnani C., Terracini B., Ivaldi C., Botta M., Budel P., Mancini A., Zanetti R., **“A cohort study on mortalità among wives of workers in the asbestos cement industry in Casale Monferrato, Italy”**, *Br. J. Ind. Med.*; 1993; **50**: 779-84.

Magnani C., Terracini B., Ivaldi C., Botta M., Mancini A., Andrion A., **“Pleural malignant mesothelioma and non-occupational exposure to asbestos in Casale Monferrato, Italy”**; *Occup. Environ. Med.*; 1995; **52**: 362-7.

Magnani C., Terracini B., Ivaldi C., Mancini A., Botta M., **“Tumor mortality and from other causes in asbestos cement workers at the Casale Monferrato plant”**; *Med. Lav.*; 1996; **87**: 133-46.

Magnani C., Ivaldi C., Botta M., Terracini B., **“Pleural malignant mesothelioma and environmental asbestos exposure in Casale Monferrato, Piedmont. Preliminary analysis of a case-control study”**; *Med. Lav.*; 1997; **88**: 302-9.

Magnani C., Leporati M., **“Mortality from lung cancer and population risk attributable to asbestos in an asbestos cement manufacturing town in Italy”**; *Occup. Environ. Med.*; 1998; **55**: 111-4.

Magnani C., Agudo A., Gonzalez C. A., Andrion A., Calleja A., Chellini E., Dalmaso P., Escolar A., Hernandez S., Ivaldi C., Mirabelli D., Ramirez J., Turuguet D., Usel M., Terracini B., **“Multicentric study on malignant pleural mesothelioma and non-occupational exposure to asbestos”**; *Brit. J. Cancer*; 2000; **83**: 104-11.

Magnani C., Dalmaso P., Biggeri A., Ivaldi C., Mirabelli D., Terracini B., **“Increased risk of malignant mesothelioma of the pleura after residential or domestic exposure to asbestos: a case-control study in Casale Monferrato, Italy”**; *Environ Health Perspect.*; 2001; **109**:915-919

Magnani C., Viscomi S., Dalmaso P., Ivaldi C., Mirabelli D., Terracini B., **“Survival after pleural malignant mesothelioma: a population-based study in Italy”**; *Tumori*; 2002; **88**: 266-269.

Magnani C., Ferrante D., Barone Adesi F., Bertolotti M., Todesco A., Mirabelli D., Terracini B., **“Cancer risk after cessation of asbestos exposure. A cohort study of Italian asbestos cement workers”**; *Occup Environ Med.*; 2007; **115**:1401-1405.

- Marconi A., Cecchetti G., Barbieri M., **“Airborne mineral fibre concentrations in an urban area near an asbestos-cement plant”**; *IARC Sci Publ.*; 1989; **90**:336-46.
- Marczynski B., Rozynek P., Kraus T., Schlosser S., Raithel HJ., Baur X., **“Levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA of white blood cells from workers highly exposed to asbestos in Germany”**; *Mutat Res.*; 2000; **468**:195-202.
- Marinaccio A., Binazzi A., Cauzillo G., Cavone D., Zotti RD., Ferrante P., Gennaro V., Gorini G., Menegozzo M., Mensi C., Merler E., Mirabelli D., Montanaro F., Musti M., Pannelli F., Romanelli A., Scarselli A., Tumino R., **“Analysis of latency time and its determinants in asbestos related malignant mesothelioma cases of the Italian register”**; *Italian Mesothelioma Register (ReNaM) Working Group. Eur J Cancer.*; 2007; **43**: 2722-8.
- Matullo G., Guarrera S., Carturan S., Peluso M., Maleveille C., Davico L., Piazza A., Vineis P., **“DNA repair gene polymorphism, bulky DNA adducts in white blood cells and bladder cancer in a case-control study”**; *Int. J. Cancer*; 2001 a ; **92**: 562-67.
- Matullo G., Palli D., Peluso M., Guarrera S., Carturan S., Celentano E., Krogh V., Munnia A., Tumino R., Polidoro S., Piazza A., Vineis P., **“XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphism, smoking and P-DNA adducts in a sample of healthy subjects”**; *Carcinogenesis*; 2001 b; **22**: 1437-45.
- Matsuo K., Hamajima N., Suzuki R., Andoh M., Nakamura S., Seto M., Morishimae Y., Tajima K., **“Lack of association between DNA base excision repair gene XRCC1 Arg399Gln polymorphism and risk of malignant lymphoma in Japan”**; *Cancer Genet Cytogen.*; 2004; **149**: 77-80.
- Maule MM., Magnani C., Dalmaso P., Mirabelli D., Merletti F., Biggeri A., **“Modeling mesothelioma risk associated with environmental asbestos exposure”**; *Environ Health Perspect*; 2007; **115**:1066-71.
- Mirabelli D., Stura A., Gangemi M., Bertolotti M., Maule MM., Magnani C., **“Incidence of malignant mesothelioma in Piedmont, 1990-2001”**; *Epidemiol Prev.*; 2007; **31**(2-3): 132-8.

Neri M., Filiberti R., Taioli E., Garte S., Paracchini V., Bolognesi C., Canessa P.A., Fontana V., Ivaldi G.P., Verna A., Bonassi S., Puntoni R., **“Pleural malignant mesothelioma, genetic susceptibility and asbestos exposure”**; *Mutat Res.*; 2005; **592**: 36-44.

Patel AV., Calle EE., Pavluck AL., Feigelson HS., Thun MJ., Rodriguez C., **“A prospective study of XRCC1 (X-ray cross-complementing group 1) polymorphisms and breast cancer risk”**; *Breast Cancer Res.*; 2005; **7**:R1168-73.

Ratnasinghe D., Yao S.X., Tangrea J.A., Qiao Y.L., Andersen M. R., Barret M. J., Giffen C.A., Erozan Y., Tockman M.S., Taylor P.R., **“Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and lung cancer risk”**; *Cancer Epidemiol. Biomar.*; 2001; **10**: 119-23.

Rybicki B. A., Conti D. V., Moreira A., Cicek M., Casey G., Witte J.S., **“DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphism and risk of prostate cancer”**; *Cancer Epidemiol. Biomar.*; 2004; **13**: 23-9.

Shen M, Hung RJ, Brennan P, Malaveille C, Donato F, Placidi D, Carta A, Hautefeuille A, Boffetta P, Porru S, **“Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in northern Italy”**; *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*; 2003; **12**: 1234-40.

Shu XO., Cai Q., Gao YT., Wen W., Jin F., Zheng W., **“A population-based case-control study of the Arg399Gln polymorphism in DNA repair gene XRCC1 and risk of breast cancer”**; *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*; 2003; **12**: 1462-7.

Smith TR., Miller MS., Lohman K., Lange EM., Case LD., Mohrenweiser HW., Hu JJ., **“Polymorphisms of XRCC1 and XRCC3 genes and susceptibility to breast cancer”**; *Cancer Lett.*; 2003; **190**: 183-90.

Sturgis E.M., Dahlstrom K.R., Spitz M.R., Wei Q., **“DNA repair gene ERCC1 and ERCC2/XPD polymorphism and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck”**; *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*; 2002; **128**: 1084-8.

Wang D., Kreutzer D.A., Essigmann J.M., “**Mutagenicity and repair of oxidative DNA damage: insights from studies using defined lesions**”; *Mutat. Res.*;1998; **400**: 99-115.

Wang Y., Spitz M. R., Zhu Y., Dong Q., Shete S., Wu X., “**From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphism with mutagen sensitivity**”; *DNA Repair*; 2003; **2**: 901-908.

Zhou W., Liu G., Miller D., Thurston S., Xu L., Wain J., Lynch T., Su L., Christiani D., “**Polymorphism in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2, smocking and lung cancer risk**”; *Cancer Epidemiol. Biomar.*; 2003; **12**: 359-65.

Elenco dei siti Internet consultati:

<http://www.assoamianto.it>

<http://www.mesoteliomamaligno.it/info.htm>

<http://www.sicurezzaonline.it>

<http://www.airc.it>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=search&DB=pubmed>

<http://it.wikipedia.org>

<http://jnci.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/96/6/434>

<http://medicinaonline.altervista.org/Mesoteliomi.htm>

<http://www.hapmap.org>

<http://www.inail.it>

Altri progetti in corso:

Questo progetto mi ha permesso di partecipare alla stesura di un protocollo di uno studio caso-controllo ospedaliero da sottoporre al comitato etico sul mesotelioma maligno della pleura che si intende effettuare nell'area dell'ex-ASL21.

Inoltre sono anche coinvolta in un progetto riguardante lo screening mammografico, dove l'obiettivo principale dello studio è individuare le caratteristiche socio-anagrafiche e personali (età, titolo di studio, condizione lavorativa, partecipazione ad altre attività di prevenzione ecc...) delle donne aderenti o non aderenti al programma di screening mammografico organizzato nelle ASL di Novara e Verbano-Cusio-Ossola della Regione Piemonte, evidenziando il ruolo che questi fattori possono avere nell'orientare la scelta delle donne ad accettare o meno l'invito a sottoporsi a screening.

Elenco dei congressi e delle relative comunicazioni

**GRELL 2010 - “XXXV Riunione del Gruppo per l’Epidemiologia e la Registrazione del cancro nei paesi di Lingua Latina”,
Toledo (Spagna) 12-14 Maggio 2010**

“Studio sulla rispondenza delle donne aderenti e non aderenti allo Screening Mammografico”
Marina Padoan, Daniela Ferrante, Giorgio Pretti, Corrado Magnani (Poster)

GISMa 2010 - “GISMa - Gruppo Italiano Screening Mammografico”, Bologna 05-06 Maggio 2010

“Caratteristiche Socio-Economiche e percorsi di diagnosi e cura delle donne aderenti e non aderenti allo Screening Mammografico”
Marina Padoan, Daniela Ferrante, Giorgio Pretti, Corrado Magnani (Poster)

AIRTUM 2010 - “XIV Riunione scientifica AIRTUM”, Sabaudia (LT) 21-23 Aprile 2010

“Studio delle caratteristiche Socio-Economiche e percorsi di diagnosi e cura delle donne aderenti e non aderenti allo Screening Mammografico”;
Marina Padoan, Daniela Ferrante, Giorgio Pretti, Corrado Magnani (Poster)

XXXIII Congresso Italiano di Epidemiologia AIE, Modena 22-24 Ottobre 2009

“Studio delle caratteristiche socio-economiche e percorsi di diagnosi e cura delle donne aderenti e non aderenti allo screening mammografico”;
Marina Padoan, Nicoletta Vitale, Daniela Alessi, Giorgio Pretti, Corrado Magnani (Poster)

GRELL 2009 - “XXXIV Riunione del Gruppo per l’Epidemiologia e la Registrazione del cancro nei paesi di Lingua Latina”, Lugano 20-22 Maggio 2009

“Association Study of XRCC1 GENE and the Malignant Pleural Mesothelioma”
Marina Padoan, Marta Betti, Daniela Ferrante, Marinella Bertolotti, Dario Mirabelli, Irma Dianzani, Corrado Magnani (Presentazione Orale)

Elenco pubblicazioni su riviste internazionali

“Pooled analysis of NAT2 genotypes as risk factors for asbestos-related malignant mesothelioma”;

Int. J. Hyg. Environ Health, 2009; 212:322-329

Betti M, Neri M, Ferrante D, Landi S, Biava A, Gemignani F, Bertolotti M, Mirabelli D, Padoan M, Ugolini D, Botta M, Bonassi S, Magnani C, Dianzani I.

“XRCC1 and ERCC1 variants modify malignant mesothelioma risk: A case-control study”

Betti M., Ferrante D., Padoan M., Guarrera S, Giordano M., Aspesi A., Mirabelli D., Casadio C., Betta P.G., Libener R., Guaschino R., Matullo G., Piccolini E., Magnani C., Dianzani I.

Mutat Res (submitted to revision)

Elenco dei corsi frequentati

Corso di Formazione “*Short Course on longitudinal studies and life course epidemiology*”, 7 Ottobre 2009 - Regione Piemonte – Torino

22nd Residential Summer Course “*EEPE - European Educational Programme in Epidemiology*”, dal 22 Giugno al 10 Luglio 2009 - presso “*Studium*” centre, Firenze

Corso Intensivo “*Molecular Epidemiology*”, 22-23 e 29-30 Maggio 2009 - presso le Molinette di Torino, Dipartimento di Scienze Biomediche & Oncologia Umana, Epidemiologia dei Tumori, CPO-Centro di riferimento per l’Epidemiologia e la Prevenzione Oncologica in Piemonte

Elenco dei seminari frequentati

“*Lezioni di Oncologia*”, Dipartimento Scienze Mediche, 18 Giugno 2010, tenuto dal Prof. Emanuele Albano, (Università degli Studi del Piemonte Orientale “*Amedeo Avogadro* - Novara)

“*Human CD38: a long journey from prognostic marker to key element in the pathogenesis, maintenance and progression of chronic lymphocytic leukemia*”, Dipartimento Scienze Mediche, 17 Giugno 2010, tenuto dal Dr.ssa Silvia Deaglio, (Università di Torino)

“*Nuove strategie anticancro: i microRNA come agenti differenziativi per i tumori solidi*”, Dipartimento Scienze Mediche, 15 Giugno 2010, tenuto dalla Prof. Carola Ponzetto, (Università di Torino)

“*Fenotipo e cellule staminali tumorali nei gliomi maligni*”, Dipartimento di Scienze Mediche, 21 Maggio 2010, tenuto dal Prof. Davide Schiffer Ph.D. M.D., (Università di Torino e direttore del Centro-Bio-Oncologia della Fondazione Policlinico di Monza Vercelli)

“*Lezioni di Oncologia*”, Dipartimento Scienze Mediche, 21 Maggio 2010, tenuto dal Prof. Emanuele Albano, (Università degli Studi del Piemonte Orientale “*Amedeo Avogadro* - Novara)

“*The Molecular Biology of Human Papillomavirus Infection and Disease*”, Dipartimento Scienze Mediche, 6 Maggio 2010, tenuto dal Prof. Dr. John Doorbar, (Division of Virology, MRC, National Institute for Medical Research, London-UK)

“*Dasatinib: Trasforming an adverse event into a new therapeutic target*”, Dipartimento Scienze Mediche, 9 Marzo 2010, tenuto dal Prof. Steve Ellis, (Università di Louisville - USA)

"Chromosome 5q deletions in MDS: Genotype/Phenotype Relationships", Dipartimento Scienze Mediche, 8 Marzo 2010, tenuto dal Prof. Steve Ellis, (Università di Louisville - USA)

"The Wonders of Yeast: Yeast as a Model Organism", Dipartimento Scienze Mediche, 5 Marzo 2010, tenuto dal Prof. Steve Ellis, (Università di Louisville - USA)

"I virus dell'influenza: aspetti patogenetici, epidemiologici e preventivi", Dipartimento Scienze Mediche, 4 Marzo 2010, tenuto dal Prof.ssa Alberta Azzi, (Dipartimento di Sanità Pubblica, Università di Firenze)

"Basi genetiche del diabete di tipo 1 e della sclerosi multipla: l'esempio della popolazione sarda", Dipartimento Scienze Mediche, 3 Marzo 2010, tenuto dal Prof. Francesco Cucca, (CNR, Moserrato - CA)

"Papillomavirus (HPV) e neoplasie cutanee", Dipartimento Scienze Mediche, 03 Marzo 2010, tenuto dal Prof. Giorgio Palù, (Università degli Studi di Padova)

"Computational analysis of protein-protein interactions", 17 Febbraio 2010, tenuto dal Prof. Stefano Pieraccini, (Dipartimento di Chimica Fisica ed Elettrochimica Università di Milano)

"A novel antiviral mechanism mediated by the chemokine receptor CCR6", Dipartimento Scienze Mediche, 11 Febbraio 2010, tenuto dal Prof. Alfredo Garzino-Demo, (Biotechnology Institute, Università del Maryland, USA)

"R & D of magnetic-nanoparticles and carrier for drugs", Dipartimento Scienze Mediche, 9 Febbraio 2010, tenuto dal Prof. Giovanni Baldi, (Centro di Ricerche Colorobbia - Vinci - Firenze)

"Dal difetto genetico all'infiammazione", Dipartimento Scienze Mediche, 28 Gennaio 2010, tenuto dal Prof. Luigi Maiuri, (Università di Foggia)

"Cellule mesenchimali stromali fetali ed adulte: potenziali applicazioni in patologie ischemiche", Dipartimento Scienze Mediche, 21 Gennaio 2010, tenuto dal Prof. Giulio Alessandri, (UO-UCV Neurobiologia Cellulare, Dipartimento di Malattie Cerebrovascolari, IRCCS Carlo Besta, Milano)

"LSD1, Lysine Specific Demethylase1: insight into a new epigenetic regulator involved in neuronal gene regulation", Dipartimento Scienze Mediche, 20 Gennaio 2010, tenuto dal Prof. Elena Battaglioli, (Dipartimento di Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Facoltà di Medicina e Chirurgia - Università degli Studi di Milano)

"Clinical significance of Antinuclear Antibodies in Autoimmune liver disease", Dipartimento Scienze Mediche, 14 Gennaio 2010, tenuto dal Prof. Pietro Invernizzi, (Dep. of Internal Medicine, IRCCS, Istituto Clinico Humanitas, Milano)

"Controllo funzionale dei linfociti T da parte di adenosina trifosfato (ATP) extracellulare", Dipartimento Scienze Mediche, 14 Dicembre 2009, tenuto dal Prof. Fabio Grassi, (Università di Milano)

"Use of MAR epigenetic regulators for therapeutic expression", Dipartimento Scienze Mediche, 30 Novembre 2009, tenuto dal Prof. Nicolas Mermod, (Institute of Biotechnology University of Lausanne, Switzerland)

"ALK e Tumorigenesi", Dipartimento Scienze Mediche, 17 Novembre 2009, tenuto dal Prof. Giorgio Inghirami, (Università di Torino)