

Intérêt des marqueurs immunohistochimiques (Ki67, HMB45, p53) dans l'analyse de risque des naevi congénitaux de petite et moyenne taille

Interest of immunohistochemic markers (Ki67, HMB45, p53) in risk analysis of congenital naevi of little and middle size

C. Lejeune¹, M. Laporte¹, S. Musette¹, M. Petein² et M. Heenen¹

¹Service de Dermatologie, Hôpital Erasme, ²Institut de Pathologie et de Génétique, Charleroi

RESUME

Le risque de développer un mélanome à partir d'un naevus congénital de petite ou moyenne taille est controversé. L'objectif de l'étude est de déterminer l'intérêt de trois marqueurs immunohistochimiques de routine (Ki67, HMB45 et p53) dans la prédiction d'une transformation maligne de ces naevi congénitaux et de voir si un profil immunohistochimique spécifique du mélanome sur ce type de naevus peut être identifié. Les marqueurs Ki67, HMB45 et p53 ont été utilisés rétrospectivement sur des coupes de naevi congénitaux de petite et moyenne taille (groupe NC, n = 15), de mélanomes sur naevi congénitaux de petite et moyenne taille (groupe MNC, n = 15) et de mélanomes sur naevi acquis (groupe MNA, n = 15). Le comptage des cellules marquées a été effectué dans plusieurs couches cutanées : jonction, derme superficiel et derme profond. Les résultats ont montré une absence de réactivité dans le groupe NC pour les trois marqueurs. Le pourcentage de cellules marquées (pour les trois marqueurs) est significativement différent dans les groupes MNC et MNA en comparaison avec le groupe NC. Par contre, il n'y a pas de différence entre les groupes MNC et MNA. Dans les groupes MNC et MNA, on observe un gradient dans le pourcentage de cellules marquées entre les couches superficielles et profondes. Ces trois immunomarquages ne permettent pas de différencier les mélanomes sur naevus congénital de petite ou moyenne taille des mélanomes sur naevus acquis. De plus, ces marquages ne semblent pas apporter d'éléments prédictifs du risque de transformation maligne des naevi congénitaux de petite et moyenne taille.

Rev Med Brux 2009 ; 30 : 477-82

ABSTRACT

The risk to develop melanoma from small or medium size congenital naevus remain controversial. The main goal of the present study was to determine the interest of three immunohistochemical markers (Ki67, HMB45 and p53) in predicting malignant transformation of these congenital naevi and to see if a specific immunohistochemical profile of such transformed naevi can be identified. The markers (Ki67, HMB45 and p53) have been used retrospectively on sections of small or medium size congenital naevi (group NC, n = 15), of melanoma developed on small or medium size congenital naevi (group MNC, n = 15) and of melanoma developed on acquired naevi (group MNA, n = 15). The labelled cells have been counted in different cutaneous layers : junction, superficial dermal layer and deep dermal layer. No reactivity was observed for the three markers in group NC. The percentage of labelled cells was significantly different for the three markers between the group NC and the groups MNC and MNA. There was no difference between the groups MNC and MNA. In the groups MNC and MNA, a gradient in the percentage of labelled cells was observed between superficial and deep layers. These three markers do not differentiate melanoma developed from congenital naevi of small or medium size and melanoma developed from acquired naevi. Moreover, the results suggest that these three markers are useless in predicting the risk of malignant transformation of small or medium size congenital naevi.

Rev Med Brux 2009 ; 30 : 477-82

Key words : melanoma, congenital naevus, immunohistochemical markers

INTRODUCTION

Le naevus congénital est une prolifération mélanocytaire bénigne présente à la naissance ou apparaissant au cours de la première voire de la deuxième année de vie selon les auteurs^{1,2}. Leur principale classification est basée sur la taille. Les naevi congénitaux de petite taille ont une taille inférieure à 1,5 cm de grand diamètre, les naevi congénitaux de taille moyenne ont un grand diamètre compris entre 1,5 et 19,9 cm et enfin les naevi congénitaux géants ont un grand diamètre ≥ 20 cm^{2,4}. La fréquence des naevi congénitaux, évaluée par plusieurs études épidémiologiques, est de l'ordre de 1 à 2 % chez les sujets blancs. Elle est un peu plus élevée chez les sujets noirs^{1,5-8}. Les naevi congénitaux géants sont rares : 1/2.000 à 1/20.000 naissances^{2,4}.

En Europe, l'incidence des mélanomes dans la population générale est de 5 à 10/100.000/an^{2,4}. Le risque de développer un mélanome à partir d'un naevus congénital est un sujet particulièrement controversé. Les naevi congénitaux géants ont un risque accru de transformation en mélanome^{3,9,10}. Ce risque est estimé entre 5 et 20 % sur toute la vie du patient^{3,4,10}. A cet égard, il faut préciser que certaines présentations histologiques (nodules de proliférations et foyers d'hypercellularité) ont longtemps été assimilées à des mélanomes mais qu'elles sont aujourd'hui considérées comme bénignes^{4,6,7,11}. Les mélanomes sur naevi congénitaux géants sont souvent diagnostiqués dans l'enfance. Une exérèse précoce des naevi congénitaux géants s'impose. Par contre, le risque de dégénérescence des naevi congénitaux de petite et moyenne taille fait toujours l'objet de débat. Le risque sur toute la vie est estimé selon les études de 0,2 à 4,9 %^{3,5,6,8}. Cette imprécision est notamment liée à la difficulté de différencier, sur une base purement clinique, les naevi acquis des petits naevi congénitaux. Il n'y a donc pas aujourd'hui de consensus dans la prise en charge des petits naevi congénitaux.

Plusieurs marqueurs immunohistochimiques sont assez couramment utilisés dans le cadre du diagnostic et du suivi des mélanomes. Les principaux d'entre eux sont MIB1-Ki67, HMB45 et DO7-p53.

Ki67 est un antigène nucléaire détecté par immunohistochimie en utilisant l'anticorps monoclonal de souris MIB1. Ki67 est exprimé de façon préférentielle au cours de toutes les phases actives du cycle cellulaire (phases G1, S1, G2 et M), mais il est absent dans les cellules au repos (phases G0). Il s'agit donc d'un marqueur de prolifération cellulaire^{13,14}. Dans les naevi congénitaux, il permet de suspecter une transformation maligne dans un nodule dermique atypique (marquage positif si ≥ 5 % cellules marquées)^{4,15}. Ce marqueur est utile à la fois pour le diagnostic et pour le pronostic des mélanomes. L'index de prolifération est significativement corrélé à l'indice de Breslow de la tumeur et semble être prédictif de la dissémination métastatique des mélanomes^{12,14,15}.

HMB45 est un anticorps qui va reconnaître l'antigène gp-100 exprimé au niveau du cytoplasme des cellules hébergeant des mélanosomes immatures. C'est un marqueur de l'activation mélanocytaire. Le marquage est positif dans 80 % des mélanomes, ce qui lui confère un intérêt dans la distinction entre lésion mélanocytaire bénigne et maligne⁴. Le profil d'immunomarquage à connotation maligne sera caractérisé par un marquage positif au niveau jonctionnel, superficiel mais aussi profond. HMB45 marque cependant aussi des cellules non mélanocytaires qui hébergent des mélanosomes (kératinocytes, macrophages)⁴.

p53 est un anticorps monoclonal de souris qui marque la protéine p53 de type sauvage et de type mutant située dans les noyaux cellulaires. Cette protéine est synthétisée en présence de lésions de l'ADN. L'accumulation de la protéine p53 provoque un arrêt de la progression de la cellule dans le cycle cellulaire (en phase G1), ce qui permet la réparation des lésions de l'ADN avant la phase de réplication (phase S). La protéine p53 intervient également dans la régulation de l'apoptose^{14,16}. On observe par ailleurs que le gène codant pour la protéine p53 (*tumor suppressor gene*) présente une mutation dans plus de 50 % des cancers¹⁷. Une mutation de p53 est ainsi observée dans plus de 90 % des carcinomes cutanés et des kératoses actiniques¹⁸. La mutation du gène p53 apparaît donc comme un événement précoce parmi les étapes de la carcinogenèse. Le marquage p53 est principalement utilisé pour déterminer le pronostic d'une lésion. L'expression élevée de p53 au niveau des cellules tumorales est associée à un pronostic sombre dans les mélanomes primaires⁴. On observe aussi que les 2/3 des nodules de prolifération des naevi congénitaux (non malins) ont un marquage p53 positif (> 5 % des cellules marquées)^{4,7}.

Dans la mesure où il apparaît clairement que les marquages Ki67, HMB45 et p53 sont impliqués dans des phénomènes qui participent à la carcinogenèse et aux réponses cellulaires à l'agression tumorale, il nous est apparu intéressant de voir si un profil immunohistochimique particulier pouvait être associé au mélanome issu d'un naevus congénital et s'il était possible, grâce à ces marqueurs, de prédire le risque d'une transformation des naevi congénitaux en mélanome. Nous nous sommes intéressés dans cette étude aux naevi congénitaux de petite et moyenne taille.

Le présent travail a ainsi pour objectif d'apporter une réponse aux deux questions suivantes :

- Les marqueurs immunohistochimiques Ki67, HMB45 et p53 permettent-ils de différencier les mélanomes développés sur un naevus congénital de petite ou moyenne taille de ceux développés sur un naevus acquis ?
- Les marqueurs immunohistochimiques Ki67, HMB45 et p53 sont-ils utiles dans la détermination du risque de dégénérescence maligne des naevi congénitaux de petite ou moyenne taille ?

MATERIELS ET METHODES

Nous avons sélectionné 15 patients consécutifs (de août 2006 à mars 2007), présentant un naevus congénital de petite ou moyenne taille (grand diamètre < 20 cm) et les avons inclus dans le groupe 1 (NC). A partir de la banque de données du Service de Dermatologie de l'Hôpital Erasme, 15 patients ayant développé un mélanome sur naevus congénital de petite ou moyenne taille ont été inclus (sur une base alphabétique) dans le groupe 2 (MNC) et 15 autres patients ayant développé un mélanome sur naevus acquis ont été inclus (sur une base alphabétique) dans le groupe 3 (MNA).

Tous les diagnostics anatomopathologiques ont été revus et confirmés par un dermatopathologiste expérimenté. Pour chaque patient, les données suivantes ont été récoltées : sexe, âge auquel le mélanome/naevus congénital a été diagnostiqué/biopsié, superficie et localisation du mélanome/naevus congénital, classification anatomoclinique, indice de Breslow et niveau de Clark du mélanome. L'ensemble des cas inclus dans le groupe NC ne présentent pas de nodules prolifératifs.

Nous avons utilisé des coupes de blocs paraffinés correspondant aux 45 lésions. Une coloration à l'hématoxyline-éosine ainsi que trois marquages immunohistochimiques : MIB1-Ki67 (Dako, dil. 1/100), HMB45 (Enzo dil. 1/50) et DO7-p53 (Biogenex dil. 1/1) ont été réalisés pour chaque patient. Ces immunomarquages ont été exécutés au moyen d'un Autostainer Plus (Dakocytomation), selon les protocoles

recommandés par les fabricants et en utilisant des contrôles positifs et négatifs appropriés. Les lames ont été analysées en déterminant le pourcentage de mélanocytes marqués dans différentes localisations (jonction, derme superficiel et derme profond). Pour chaque localisation, les mélanocytes marqués ont été comptés dans 5 champs différents comportant chacun 100 cellules. Une moyenne a été calculée à partir de ces 5 comptages et ces moyennes ont été incorporées dans les tableaux de résultats.

Les données expérimentales ont été analysées au moyen du programme statistique NCSS (JL Hintze, Kaysville, Utah) dans sa version 5.03-9/91. On a eu recours à la méthode ANOVA et au test de Newman-Keuls (si F de ANOVA significatif à $p < 0.05$) pour comparer les moyennes des trois groupes. La normalité des données dans chaque groupe a été testée au moyen du test de Kolmogorov-Smirnov. Dans les cas où le test de normalité n'était pas satisfaisant ou lorsque la variable consistait en un nombre limité de catégories possibles (niveaux de Clark), un test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été réalisé afin de rendre l'analyse plus robuste. Quelques analyses de corrélation ont été effectuées par la méthode classique, c'est-à-dire en ne faisant pas appel aux analogues non paramétriques (Spearman et Kendall)¹⁹.

RESULTATS

Le tableau 1 reprend les moyennes \pm erreur standard de la moyenne de toutes les variables analysées.

Tableau : Tableau des résultats.					
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Statistiques	
Variables	NC	MNC	MNA	A/KW	NK/KW
	m \pm esm	m \pm esm	m \pm esm	p < 0.05	p < 0.05
Age (années)	30,5 \pm 4,0	46,5 \pm 2,9	47,7 \pm 3,7	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
Superficie (cm ²)	1,90 \pm 0,34	2,08 \pm 0,44	0,64 \pm 0,27	S	1 \neq 3 ; 2' \neq 3
Breslow (mm)		1,50 \pm 0,22	0,79 \pm 0,09	S	2 \neq 3
Clark (niveau)		3,20 \pm 0,22	2,67 \pm 0,19	NS	
Ki67 J (%)	1,25 \pm 0,15	14,70 \pm 2,08	14,00 \pm 1,92	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
Ki67 DS (%)	1,00 \pm 0,15	11,26 \pm 2,05	9,10 \pm 1,24	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
Ki67 DP (%)	0,42 \pm 0,10	7,72 \pm 1,39	5,13 \pm 0,99	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
HMB45 DS (%)	1,00 \pm 0,41	60,66 \pm 6,33	64,20 \pm 6,60	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
HMB45 DP (%)	0,00 \pm 0,00	14,60 \pm 2,15	14,00 \pm 2,21	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
p53 DS (%)	0,14 \pm 0,06	4,86 \pm 1,57	4,80 \pm 1,44	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3
p53 DP (%)	0,00 \pm 0,00	3,20 \pm 1,13	2,66 \pm 0,83	S	1 \neq 2 ; 1 \neq 3

A : Anova ; KW : Kruskal-Wallis ; NK : Newman-Keuls ; J : jonction ; DS : derme superficiel ; DP : derme profond ; S : significatif ; NS : non significatif ; m \pm esm : moyenne \pm erreur standard de la moyenne ; NC : naevus congénital ; MNC : mélanome sur naevus congénital ; MNA : mélanome sur naevus acquis.

L'âge moyen est inférieur dans le groupe NC. La superficie moyenne de la lésion est inférieure dans le groupe MNA. Les groupes MNC et MNA présentent un indice de Breslow significativement différent témoignant d'un développement vertical plus marqué des MNC dans notre étude. Par contre, les niveaux moyens de Clark ne sont pas significativement différents entre ces deux groupes.

Le pourcentage des mélanocytes marqués par les 3 anticorps étudiés (MIB1-Ki67, HMB45 et DO7-p53) est anecdotique dans le groupe NC. On remarque l'absence stricte de cellules marquées par HMB45 et p53 dans le derme profond dans ce groupe. On note une différence significative pour les trois immunomarquages, dans chacune des localisations étudiées, entre le groupe NC et les groupes MNC et MNA. Par contre aucune différence significative n'est mise en évidence entre les groupes MNC et MNA.

Nos résultats révèlent également que les immunomarquages sont plus importants au niveau des couches superficielles de la peau dans les groupes MNC et MNA (figure 1).

Les figures 2 et 3 illustrent une coupe histologique d'un mélanome sur naevus congénital marqué respectivement par HMB45 et par p53.

Le marquage p53 dans les groupes MNC et MNA est fort hétérogène et peu important (figure 4).

Il n'y a pas de bonne corrélation dans notre étude entre le marquage p53 et l'indice de Breslow ($r = 0,24$ entre p53-DS et Breslow).

Nous n'avons pas retrouvé de corrélation évidente entre l'indice de Breslow et l'immunomarquage Ki67 dans les groupes MNC et MNA ($r = 0,31$ entre Ki67-J et Breslow) comme l'illustre la figure 5.

En analysant les données individuelles des groupes NC et MNC, et en tenant compte d'un *cut-off* de 5 % de cellules marquées pour Ki67-J et de 50 % pour HMB45-DS, on peut montrer que le test immunohistochimique présente une sensibilité de 100 % et une spécificité de 88 % pour chacun des deux marqueurs. Il présente donc un intérêt manifeste dans le diagnostic des lésions mélanocytaires.

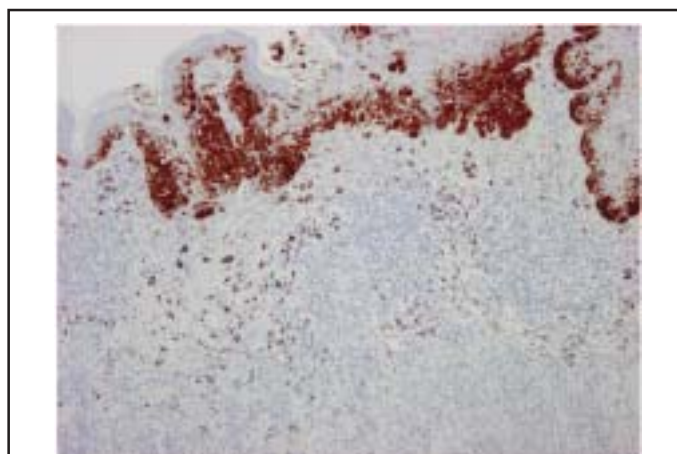


Figure 2 : Mélanome sur naevus congénital (HMB45), grossissement 100 x. Expression de HMB45.

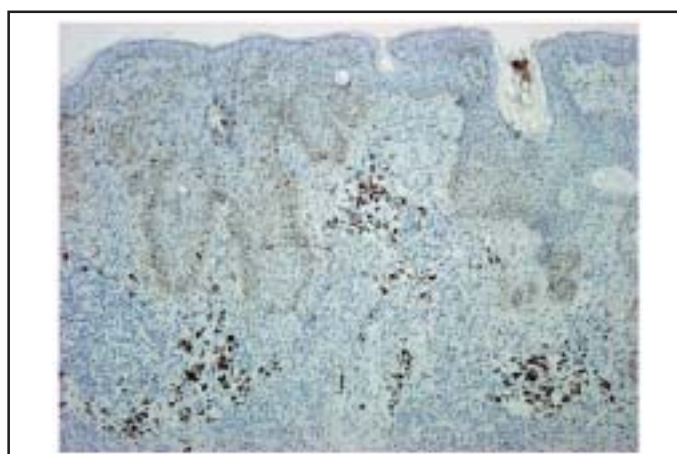


Figure 3 : Mélanome sur naevus congénital (p53), grossissement 100 x. Expression de p53.

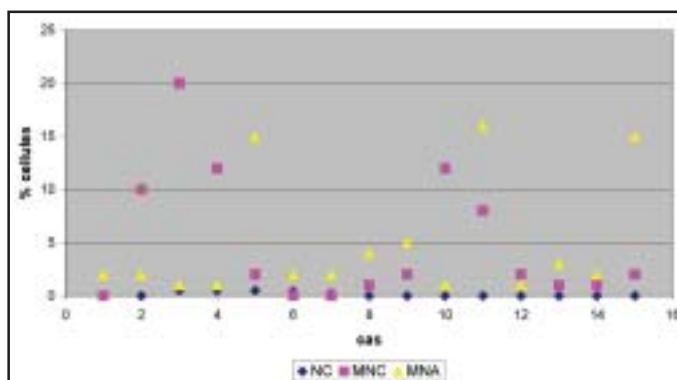


Figure 4 : Comptages individuels p53 au niveau du DS dans les trois groupes.

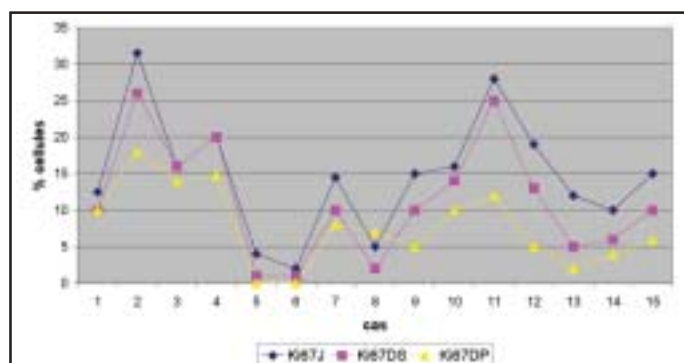


Figure 1 : Comptages individuels Ki67 au niveau du groupe MNC dans les trois couches.

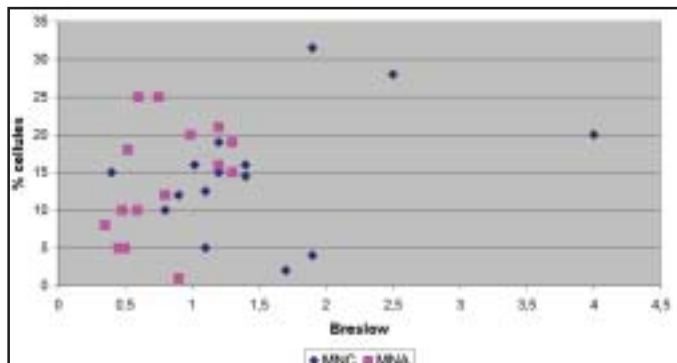


Figure 5 : Corrélation entre le Breslow et le comptage Ki67-J dans les MNC et MNA.

DISCUSSION

Les résultats de la présente étude démontrent que les immunomarquages par Ki67, HMB45 et p53 ne permettent pas de différencier les mélanomes développés sur un naevus congénital de petite ou moyenne taille de ceux développés sur un naevus acquis. Ceci suggère que les mélanomes développés sur les naevi congénitaux de petite et moyenne taille sont similaires à ceux développés sur des naevi acquis en tout cas pour les similitudes testées par les trois anticorps étudiés.

Compte tenu de l'absence totale de réactivité aux marqueurs Ki67, HMB45 et p53 dans le groupe NC, ceux-ci paraissent ne présenter aucun intérêt dans la détermination précoce du risque de dégénérescence maligne des naevi congénitaux de petite et moyenne taille. Cela semble plausible en raison du fait que ces marqueurs épingle des cellules en phase proliférative ou en phase de stress tumoral ou génotoxique. Il importe aussi de considérer que le risque de transformation en mélanome d'un naevus congénital de petite ou moyenne taille varie de 0,2 à 4,9 % c'est-à-dire équivaut à 1 cas sur 20 dans la "meilleure" des situations. Il était donc peu probable qu'au sein des 15 patients du groupe NC, on soit tombé sur un cas susceptible de dégénérer en mélanome. Afin de répondre à cette question relative à la détermination du risque de mélanome, la réalisation d'une étude prospective est probablement mieux adaptée. Toutefois, il ne paraît pas aisé d'imaginer un grand groupe de patients (plusieurs centaines) porteurs de naevi congénitaux de petite et moyenne taille que l'on suivrait au cours du temps et chez qui on aurait pratiqué au départ une biopsie sans exérèse totale du naevus afin d'en connaître les caractéristiques histologiques et immunohistochimiques.

Les trois groupes de patients de cette étude ne sont pas tout à fait comparables en termes d'âge moyen et de superficie moyenne des lésions mélanocytaires. Il ne nous semble pas cependant que cela puisse affecter l'interprétation de nos résultats. Les différences de signification statistique entre les groupes MNC et MNA pour l'indice de Breslow et le niveau de Clark résultent peut-être d'une approche résolument différente des deux marqueurs (mesure métrique continue pour le premier, nombre de couches cutanées atteintes pour le second) car les deux groupes ne se différencient par aucun autre marqueur. D'autre part, si la plupart des naevi congénitaux du groupe 1 ont été excisés pour des motifs anamnestiques (caractère congénital), il n'en demeure pas moins que certains d'entre eux l'ont probablement été à la suite d'une modification de leur présentation clinique. Ce fait a peut-être induit au sein de ce groupe une concentration de naevi à risque et donc, par hypothèse de travail, plus susceptibles de réagir aux immunomarquages. Ce qui n'a pas été observé.

Dans la mesure où toutes les lésions mélanocytaires des groupes MNC et MNA se trouvent

en zones photo-exposées, il ne nous est pas possible de rendre compte d'un éventuel effet médié par le rayonnement ultra-violet²⁰.

Dans les groupes MNC et MNA, l'étude des marquages Ki67 montre une réactivité immuno-histochimique plus importante au niveau jonctionnel en comparaison avec le derme superficiel et le derme profond en accord avec la littérature¹⁵. De plus, la comparaison des *F-ratio* issues des analyses de variance réalisées pour chaque couche cutanée étudiée séparément ainsi que pour l'ensemble des trois couches démontre que le meilleur critère discriminant est l'activité au niveau jonctionnel (*F-ratio* Ki67-J = 21,3 ; Ki67-DS = 15,2 ; Ki67-DP = 14,0 ; Ki67-ensemble = 18,8). Ce résultat est à mettre en parallèle avec les données de Li et coll.²¹ qui avaient montré un meilleur pouvoir discriminant du marquage Ki67 de l'ensemble des couches cutanées par rapport au derme superficiel.

CONCLUSION

Les résultats de la présente étude démontrent que les immunomarquages par Ki67, HMB45 et p53 ne permettent pas de différencier les mélanomes développés sur un naevus congénital de petite ou moyenne taille de ceux développés sur un naevus acquis. De plus ces marquages, compte tenu du *design* expérimental de notre étude, ne paraissent pas apporter d'éléments prédictifs du risque de transformation en mélanome des naevi congénitaux de petite et moyenne taille. Une telle évaluation, relative à la valeur pronostique de la signature protéique des naevi congénitaux, reste à faire. En conséquence, les résultats obtenus ne sont pas de nature à modifier les recommandations actuelles en matière de prise en charge des naevi congénitaux de petite et moyenne taille.

BIBLIOGRAPHIE

1. Tannous ZS, Mihm MC Jr, Sober AJ, Duncan LM : Congenital melanocytic nevi : clinical and histopathologic features, risk of melanoma, and clinical management. *J Am Acad Dermatol* 2005 ; 52 : 197-206
2. Saurat JH, Grosshans E, Laugier P, Lachapelle JM : Dermatologie et maladies sexuellement transmissibles. Paris, Masson, 1999
3. Sahin S, Levin L, Kopf AW *et al.* : Risk of melanoma in medium-sized congenital melanocytic nevi : a follow up study. *J Am Acad Dermatol* 1998 ; 39 : 428-33
4. Bailly C, Vergier B : Diagnostic des tumeurs mélaniques cutanées. Académie internationale de pathologie, Division Française, 2005-2006
5. Rhodes AR, Silverman RA, Harrist TJ, Melski JW : A histologic comparison of congenital and acquired nevocytic nevi. *Arch Dermatol* 1985 ; 121 : 1266-73
6. Lowes MA, Norris D, Whitfield M : Benign melanocytic proliferative nodule within a congenital naevus. *Australas J Dermatol* 2000 ; 41 : 209-11

7. Herron M, Vanderhooft S, Smock K, Zhou H, Leachman S, Coffin C : Proliferative nodules in congenital melanocytic nevi : a clinicopathologic and immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol* 2004 ; 28 : 1017-25
8. Grob JJ, Bonerandi JJ, Guillaume JC : Doit-on préconiser l'exérèse systématique des petits naevi congénitaux ? *Ann Dermatol Vénéréol* 1991 ; 118 : 483-6
9. Krengel S, Hauschild A, Schäfer T : Melanoma risk in congenital melanocytic naevi : a systematic review. *Br J Dermatol* 2006 ; 155 : 1-8
10. Swerdlow AJ, English JS, Qiao Z : The risk of melanoma in patients with congenital nevi : a cohort study. *J Am Acad Dermatol* 1995 ; 32 : 595-9
11. Xu X, Bellucci KSW, Elenitsas R, Elder DE : Cellular nodules in congenital pattern nevi. *J Cutan Pathol* 2004 ; 31 : 153-9
12. Bastian BC, Xiong J, Frieden IJ *et al.* : Genetic changes in neoplasms arising in congenital melanocytic nevi. *Am J Pathol* 2002 ; 161 : 1163-9
13. Vereecken P, Laporte M, Heenen M : Significance of cell kinetic parameters in the prognosis of malignant melanoma : a review. *J Cutan Pathol* 2007 ; 34 : 139-45
14. Heenen M, Laporte M : Marqueurs moléculaires associés au pronostic du mélanome. *Ann Dermatol Vénéréol* 2003 ; 130 : 1025-31
15. Moretti S, Spallanzani A, Chiarugi A, Fabiani M, Pinzi C : Correlation of Ki67 expression in cutaneous primary melanoma with prognosis in a prospective study : different correlation according to thickness. *J Am Acad Dermatol* 2001 ; 44 : 188-92
16. Miller AJ, Mihm MC Jr : Melanoma, mechanism of disease. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 51-65
17. Benjamin CL, Ananthaswamy HN : p53 and the pathogenesis of skin cancer. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006 ; doi: 10.1016/j.taap.2006.12.006
18. Ziegler AM, Jonason AS, Leffell DJ *et al.* : Sunburn and p53 in the onset of skin. *Nature* 1994 ; 372 : 773-6
19. Armitage P, Berry G : Statistical methods in medical research. Oxford, Blackwell Scientific Publication, 1994
20. Placzek M, Przybilla B, Kerkmann U, Gaube S, Gilbertz KP : Effect of ultraviolet (UV)A, UVB or ionizing radiation on the cell cycle of human melanoma cells. *Br J Dermatol* 2007 ; 156 : 843-7
21. Li LX, Crotty KA, Mc Carthy SW, Palmer AA, Kril JJ : A zonal comparison of MIB1-Ki67 Immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol* 2000 ; 22 : 489-95

Correspondance et tirés à part :

M. HEENEN
 Hôpital Erasme
 Service de Dermatologie
 Route de Lennik 808
 1070 Bruxelles
 E-mail : michel.heenen@ulb.ac.be

Travail reçu le 16 mars 2009 ; accepté dans sa version définitive le 19 juin 2009.