

ROLUL IMUNOHISTOCHEMEI ÎN DIAGNOSTICUL SARCOMULUI KAPOSI

THE ROLE OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY IN THE DIAGNOSIS OF KAPOSI'S SARCOMA

S.R. GEORGESCU**, A. LIMBĂU*, E. MUȘA***, M. TAMPA**, M.D. TĂNĂSESCU*,
S. ZURAC*, M.I. POPA*

Rezumat

Sarcomul Kaposi (KS) este o tumoră vasculară frecvent asociată cu virusul imunodeficienței umane, cu vârsta înaintată sau cu imunosupresia iatrogenă. Sarcomul Kaposi ridică probleme în diagnosticul histologic, din cauza numeroaselor sale variante morfologice și a similitudinilor cu mai multe leziuni vasoproliferative. Astfel, diferențierea sarcomului Kaposi de alte tumori vasculare benigne sau maligne, poate fi o provocare. Imunohistochimia pentru markerii celulari endoteliali CD31, CD34 și de asemenea pentru detectarea virusului herpetic uman 8 (HHV-8) poate fi utilizată ca instrument valoros în diagnosticul pozitiv.

Cuvinte cheie: sarcomul Kaposi, imunohistochimie, markeri celulari endoteliali.

Intrat în redacție: 20.08.2016

Acceptat: 26.09.2016

Summary

Kaposi's sarcoma (KS) is a vascular tumor frequently associated with human immunodeficiency virus infection, advanced age, or iatrogenic immunosuppression. Kaposi sarcoma poses problems in histological diagnosis because of its broad morphologic variants and similarity to many vasoproliferative lesions. Thus, differentiating Kaposi sarcoma from other benign or malignant vascular tumors, can be challenging. Immunohistochemistry for endothelial cell markers CD31, CD34 and also for the detection of human herpes virus 8 (HHV-8) can be used as a valuable tool for positive diagnosis.

Key words: Kaposi's sarcoma, immunohistochemistry, endothelial cell markers.

Received: 20.08.2016

Accepted: 26.09.2016

Introducere

Sarcomul Kaposi (SK) este tumoră vasculară cu un grad scăzut de malignitate ce se manifestă deseori sub formă de multiple macule roșii sau violete, de regulă limitată la extremitățile inferioare. Pe măsură ce boala progresează, leziunile se îngroașă, devin maronii, cu aspect

Introduction

Kaposi's sarcoma (KS) is vascular tumor with a low-grade malignant potential that often manifests with multiple red, or purple macules, typically confined to the lower extremities. As the disease progresses, the lesions harden, becoming brown-colored with an irregular aspect and may

* Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București.
"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

** Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, Departamentul de Dermatologie, București.
Dermatology Department, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest.

*** Spitalul Clinic „Victor Babes”, Departamentul de Dermatologie, București.
"Victor Babes" Clinical Hospital, Dermatology Department, Bucharest.

neregulat și pot difuza la nivelul mucoasei orale și a organelor viscerale. Aceasta neoplazie poate implica toate organele și locațiile anatomice .

În anul 1872, medicul austro-ungar Moritz Kaposi (1837-1902) descrie o afecțiune studiată la cinci pacienți de sex masculin, caracterizată prin prezența de noduli maro-roșiatici și plăci pe picioare și mâini. La acel moment Kaposi considera această boală ca fiind fatală și incurabilă încă de la debut. Decesul acestor pacienți survenise la cca. 3 ani de la depistarea bolii, după o evoluție caracterizată prin apariția febrei, a hemoragiilor digestive și a hemoptiziilor. Inițial a fost numit „sarcom multiplu idiopatic al pielii“, ulterior a devenit cunoscut ca sarcom Kaposi (SK) .

Pentru cea mai mare parte a secolului 20, sarcomul Kaposi clasic a fost considerat în Europa și America drept un neoplasm indolent. La începutul anilor 1980, după recunoașterea asocierii sale cu sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA), acest neoplasm vascular a primit multă atenție în literatura de specialitate . După identificarea unui nou virus uman cantonat în leziunile pacienților cu sarcom Kaposi, cunoscut sub numele de virusul herpetic uman tip VIII (HHV8), afecțiunea s-a numit sarcom Kaposi asociat herpesvirusului (KSHV) . În acest moment, formele recunoscute clinico-epidemiologice ale sarcomului Kaposi includ SK clasic, african (endemic), cel asociat cu SIDA (epidemic) și iatrogenic .

SK ramane cea mai frecventă neoplazie întâlnită în rândul pacienților cu SIDA. La momentul diagnosticului inițial cu sarcom Kaposi, majoritatea persoanelor infectate HIV au un grad avansat de imunosupresie, indicată printr-un număr foarte mic de celule CD4 (mai puțin de 500/mm³) .

Forma clasică a sarcomului Kaposi are de regulă o evoluție cronică, indolentă și rar influențează la pacienții afectați, supraviețuirea. În forma epidemie sau în cea asociată infecției HIV, sarcomul Kaposi se dezvoltă, de obicei, în stadiile tardive ale bolii, la pacienți cu deteriorare imuna avansată (nivelul CD4 scade sub 500celule/mm³) .

Leziunile sarcomului Kaposi evoluează de la macule incipiente (stadiul de pată) spre plăci (stadiul de placă) care se dezvoltă în noduli de dimensiuni mai mari (stadiul de tumoră). În mod tradițional, șase variante histologice sunt

disseminate to oral mucosa and visceral organs. It may involve all organs and anatomic locations.

In 1872, the Hungarian physician Moritz Kaposi described a condition seen in five male patients, characterized by the presence of reddish-brown nodules and plaques on the feet and hands. At that time Moritz Kaposi considered that as a fatal and incurable disease from the very beginning. The death of those patients occurred at approximately 3 years from the disease detection, after an evolution characterized by the appearance of fever, gastrointestinal bleeding and hemoptysis. It was initially called "multiple idiopathic sarcoma of the skin", and later became known as Kaposi sarcoma (KS) .

For most of the 20th century, classic Kaposi's sarcoma was considered in Europe and America as an indolent neoplasm. In the early 1980s after recognition of its association with the acquired immune deficiency syndrome (AIDS) this tumor received much attention in the literature . After the recognition of a new human virus in the lesions of all patients with Kaposi sarcoma known as human herpesvirus 8 (HHV8), the condition was called Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) . At the moment, well known epidemiologic-clinical forms of KS include classic, African (endemic), AIDS-associated (epidemic) and iatrogenic KS .

KS remains the most prevalent malignancy among patients with AIDS. At the time of initial diagnosis, most people with HIV infection have a high degree of immunosuppression indicated by a very low CD4 count (less than 200 cells/mm³) .

Usually, the classic form of Kaposi's sarcoma has a chronic, indolent course, and it rarely influences survival in affected patients. In the epidemic form or AIDS-related KS, it currently occurs in more advanced stages of the disease, at people with progressive deterioration of immune status (CD4 level drop below 500cells/mm³).

Kaposi sarcoma lesions evolve from early (patch stage) macules into plaques (plaque stage) that grow into larger nodules (tumor stage). Traditionally, six histological variants are recognized in present and include, beside the early patch stage, the plaque stage, the nodular stage other forms like the intravascular, the

recunoscute în prezent și includ, pe langa stadiul incipient de macula, placa, nodul și altele, cum ar fi forma intravasculară, cea limfangioma-like și formele similare angiosarcomului . Recent, au fost descrise mai mult de zece variante histopatologice. Aceste aspecte histologice nu variază în mod semnificativ între diferitele subtipuri clinice, dar variază în funcție de stadiul leziunii .

Din cauza vastului spectru de afecțiuni vasoproliferative pe care le mimează sarcomul Kaposi, imunohistochimia a devenit standardul de aur în ceea ce privește diagnosticul de certitudine. Antigenele CD31, CD34, factorul FVIII precum și indentificarea HHV-8 și LANA-1 sunt esențiali pentru diagnostic. Dintre toate acestea, antigenul latent nuclear asociat HHV8 este cel mai important test diagnostic imunohistochimic util în diferențierea sarcomului Kaposi de alte patologii asemănătoare .

Până în prezent, mai mult de 100 de anticorpi inițiali au fost evaluați prin teste imunohistochimice în sarcomul Kaposi. Aceștia au fost studiați pentru a se putea evidenția histogeneza și patologia sarcomului, precum și pentru a facilita diagnosticarea și elaborarea unor obiective terapeutice noi .

În stadiul macular, în cel nodular și în leziunile agresive tardive, diagnosticul diferențial este unul extrem de dificil, mai ales când datele clinice nu sunt disponibile . Astfel, un diagnostic de certitudine poate fi imposibil de stabilit dacă imunohistochimia (IHC) nu este disponibilă. Markerii celulari adecvați pot clarifica natura vasculară a leziunii subiacente, rețeaua vasculară rămânând pozitivă la markerii CD34, CD31 și negativă la factorul XIIIa .

Metode

Acesta este un studiu descriptiv ce implică analizarea biopsiilor cutanate diagnosticate ca SK. Probele de biopsie au fost prelevate de la pacienți urmăriți din 2010 până în 2014. Biopsiile cutanate au corespuns celor 63 de pacienți cu sarcom Kaposi clasic HIV negativi, cu vârste cuprinse între 36 și 90 de ani. Toate cazurile identificate și incluse în acest studiu au fost supuse examinării histologice și imunohistochimice pentru confirmarea diagnosticului. Am ținut cont de următorii parametrii: clasificarea histopatologică a tumorii și pro-

lymphangioma like and the angiosarcoma-like . Recently, more than ten additional variants have been described. These histological features do not differ significantly between clinical subtypes, but varies according to the stage of the lesion .

Due to the vast spectrum of vasoproliferative disorders that mimic Kaposi's sarcoma, immunohistochemistry has become the gold standard regarding the accurate diagnosis. Antigens CD31, CD34, the factor FVIII and also the identification of HHV-8 LANA-1 are essential for diagnosis. Of all these, latency-associated nuclear antigen of HHV8 is the most specific immunohistochemical marker available to help distinguish KS from its mimics .

So far, more than 100 antibodies were evaluated by immunohistochemical tests in Kaposi's sarcoma. They were studied in order to highlight the sarcoma histogenesis and pathology and also to facilitate the diagnosis and development of new therapeutic strategies .

In macular and nodular stage as well as in late and aggressive lesions, the differential diagnosis is extremely difficult, especially when clinical data is not available . Thus, an accurate pathology diagnosis would be impossible without immunohistochemistry (IHC). Adequate cell markers may clarify the nature of underlying vascular lesions, the vascular network remaining positive to CD34 and CD31 markers and negative to XIII factor .

Methods

This is a descriptive study involving analyzing skin biopsies diagnosed as KS. The biopsy samples were taken from patients followed from 2010 to 2014. The skin biopsies corresponded to 63 patients with classic Kaposi's sarcoma non HIV, aged between 36 and 90 years. All the cases identified and included in this study were submitted to histological and immunohistochemical examination for diagnosis confirmation. The following parameters were taken into account: histopathological tumor classification and the lab protocol (macroscopic and microscopic description of excised tissue).

The surgical excision samples were obtained after a preliminary local anesthesia, through surgical biopsy, which provided a sufficiently

tocolul de laborator (descrierea macroscopică și microscopică a țesutului excizat).

Fragmentele cutanate au fost obținute după o prealabilă anestezie locală, prin biopsiere chirurgicală, care a permis o prelevare suficient de profundă necesară unei examnări complete. Toate fragmentele eştionate de țesuturi tumorale provenite de la toți pacienții incluși în studiu, au fost investigate histologic. În acest scop, după descrierea macroscopică, probele de țesut au fost fixate în formol tamponat 10%, incluse în parafina. Examenul histopatologic al țesuturilor excizionate reprezintă tehnica cu cea mai mare specificitate. Procedurile histologice convenționale ne-au permis să efectuăm serii de secțiuni cu grosime de 3-5 μ . Imersarea ulterioară în alcool sau pulverizarea cu fixativ a prevenit artefactele prin uscarea la aer.

Pentru studiul imunohistochimic am utilizat același material biologic folosit și pentru investigațiile histologice. După ce am efectuat o deparafinare în formol în doua etape, timp de 20 de minute, cu re-hidratarea ulterioară în soluții de alcool și apă, secțiunile de țesut au fost apoi examinate imunohistochimic.

Colorarea imunohistochimică este definitivată prin anticorpii care recunosc proteina țintă. Din moment ce anticorpii sunt extrem de specifici, aceștia se vor lega numai de proteina de interes din secțiunea de țesut. Interacțiunea antigen-anticorp este apoi vizualizată fie folosind detecția cromogenică, în care o enzimă conjugată cu un anticorp scindează substratul pentru a produce un precipitat colorat la situsul de legare cu proteina, fie detectarea fluorescentă în care un fluorocrom este conjugat cu un anticorp și va fi vizualizat la microscopia cu fluorescență. Aceasta tehnica a cuprins un algoritm standard, cu unele variații în funcție de anticorpii folosiți .

Rezultate

Am efectuat marcarea celulelor pentru diferite structuri celulare folosind o serie de anticorpi, cum ar fi mai mulți markeri endoteliali-specifici (CD31, CD34) și unele proteine ale membranei celulare. De asemenea, la fiecare caz din studiul nostru am efectuat imunohistochimia pentru HHV-8 cu scopul de a confirma diagnosticul de sarcom Kaposi. Toate cele 67 de cazuri de sarcom Kaposi au prezentat o colorare nucleară puternică pentru HHV-8 (100%). (figura 3).

deep sampling necessary to a complete examination. All the sampled tumor tissue fragments for all the patients of the study were histologically investigated. For this purpose, after macroscopic description, tissue specimens were fixed in 10% buffered formalin, paraffin embedded. Histopathological examination of tissue excision represented the technique with the highest specificity. Conventional histological procedures allowed us to carry out series of 3-5 μ thickness sections. The subsequent immersing of the slide in alcohol or the spraying with fixative prevented air-drying artifact.

For immunohistochemical analysis, we utilized the same biological material also used for histological investigations. After we conducted a deparaffinization in xylol, in two 20-minute stages with later re-hydration in alcohol solutions and water, the tissue sections were then examined immunohistochemically.

Immunohistochemical staining is accomplished with antibodies that recognize the target protein. Since antibodies are highly specific, these will bind only to the protein of interest in the tissue section. The antibody-antigen interaction is then visualized using either chromogenic detection, in which an enzyme conjugated to the antibody cleaves a substrate to produce a colored precipitate at the location of the protein, or fluorescent detection, in which a fluorophore is conjugated to the antibody and can be visualized using fluorescence microscopy. This technique comprised a standard algorithm, with some variations depending on the used antibodies .

Results

We performed the cells labeling for different cell structures using a series of antibodies such as several endothelial-specific markers (CD31, CD34) and some proteins of the cell membrane. Also, for each case of our study we performed immunohistochemistry for HHV-8 to confirm the diagnosis of Kaposi's sarcoma. All 67 Kaposi cases showed strong, nuclear staining for HHV-8 (100%). (figure 3)

The histogenesis of KS has been debated and, until now, remains unclear. The endothelial cell is the most commonly accepted cell of origin . Endothelial markers CD34 and CD31 are the

Histogeneza sarcomului Kaposi a fost îndelung dezbătută și, până în prezent, rămâne incertă. Celula endotelială este celula de origine cea mai vehiculată. Markerii endoteliali CD34 și CD31 sunt cei mai răspândiți și utilizați markeri ai diferențierii endoteliale, chiar dacă nici unul dintre ei nu este în întregime specific. CD31 este mai sensibil și mai specific decât CD34 și este, de asemenea, exprimat în macrofage. În studiul prezent, din totalul de 67 de pacienți, markerul CD31 a fost pozitiv doar la un număr de 18 pacienți (26.86%), în opoziție cu markerul CD34 care a fost pozitiv la 25 de pacienți (37.31%). Mai mult decât atât, o pozitivitate marcantă și consistentă pentru CD34 a fost observată în populația celulelor fusiforme. Suprafețele luminale ale tuturor elementelor vasculare au fost deosebit de clar delimitate de acești markeri care au permis adesea aprecierea vaselor ce nu au fost vizibile pe secțiunile colorate cu hematoxilin eozină. Anticorpul CD34 asigură o marcă extrem de specifică a tuturor elementelor din cadrul leziunilor de sarcom Kaposi. Anticorpul CD31 a fost reprezentat mai puțin uniform decât markerul CD34.

Imaginile prezentate mai jos reflectă aspectele histopatologice ale leziunilor de sarcom Kaposi din diferite probe prelevate de la pacienții din lotul de studiu, precum și profilul imunohistochimic al markerilor endoteliali CD31 și CD34. (figura 1,2).

Discuții

Principiul imunohistochimiei a fost elaborat încă din 1930, dar nu a fost pus în practică până în anul 1941 când primul studiu de IHC a fost raportat. Odată cu extinderea și dezvoltarea tehnicii, au fost introduși markeri enzimatici, cum ar fi peroxidaza și fosfataza alcalină. Obiectivul imunohistochimiei este acela de a realiza colorarea cu minimum de daune asupra celulei sau a țesutului și utilizarea unei cantități minime de anticorpi.

În ceea ce privește detectarea imunohistochimică a markerilor CD31 și CD34 în sarcomul Kaposi, studiile anterioare au fost limitate. Datele prezentate aici demonstrează că anticorpul CD34 și, într-o măsură mai mică CD31 sunt mai fiabili la marcarea leziunilor de sarcom Kaposi decât markerii tradiționali ai celulelor endoteliale și decât antigenul factorului VIII. În

most widely used markers of endothelial differentiation, although neither is entirely specific. CD31 is more sensitive and specific than CD34 and is also expressed in macrophages. In the present study, of the total of 67 patients, CD31 marker was positive in only 18 patients (26.86%) as opposed to CD34 marker which was positive in 25 patients (37.31%). Furthermore, a prominent and consistent positivity for CD34 was seen in the spindle cell population. The luminal surfaces of all vascular elements were particularly clearly delineated by these markers which often permitted the appreciation of vessels not apparent on haematoxylin and eosin stained sections. CD34 antibodies provided exceptionally consistent labelling of all elements within the lesions of Kaposi sarcoma. The CD31 antibody was less consistent than the CD34 markers.

The images below reflect the histopathological features of Kaposi sarcoma lesions from various samples collected from our group patients as well as the immunohistochemical profile of CD 31 and CD34 endothelial markers.(figure 1, 2)

Discussions

The principle of IHC has existed since the 1930s, but it was not put into practice until 1941 when the first IHC study was reported. With the expansion and development of IHC technique, enzyme labels have been introduced, such as peroxidase and alkaline phosphatase. The aim of IHC is to perform most IHC staining by causing minimum damage on the cell or tissue, and by using minimum amount of antibodies.

Regarding immunohistochemical detection of CD31 and CD34 markers in Kaposi sarcoma, previous studies have been limited. The data presented here demonstrate that CD34, and to a less extent CD31 antibodies are more reliable at labelling Kaposi sarcoma lesions than the traditional endothelial cell markers and factor VIII related antigen. In conclusion, they can be used on routinely processed tissue.

For Kaposi sarcoma CD34 seems to be superior to CD31. Our findings demonstrate that CD34 is the best marker for labelling Kaposi sarcoma lesions in routinely fixed tissue. CD34 is said to be present on normal venular but not

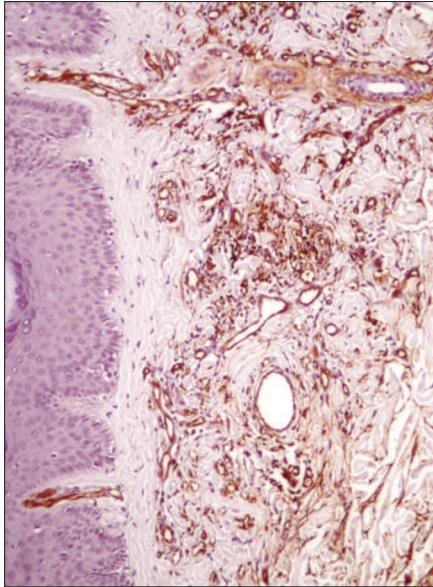


Fig. 1. Celule endoteliale normale și tumorale pozitive pentru CD34
Fig. 1. Normal and tumoral endothelial cells positive for CD34

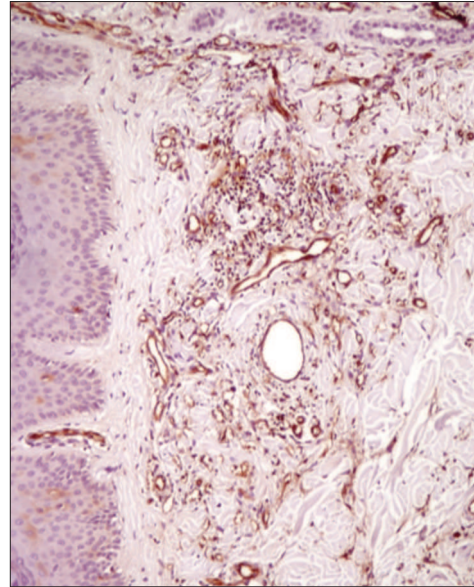


Fig. 2. Celule endoteliale normale și tumorale pozitive pentru CD31
Fig. 2. Normal and tumoral endothelial cells positive for CD31

concluzie, aceștia pot fi folosiți în țesutul procesat de rutină.

Pentru sarcomul Kaposi CD34 pare a fi superior markerului CD31. Cercetările noastre demonstrează că CD34 este cel mai bun marker pentru etichetarea leziunilor din sarcomul Kaposi fixate prin metode uzuale. CD34 este considerat a fi prezent în rețeaua vasculară normală, dar nu și în endoteliul limfatic și de asemenea, a fost raportat ca fiind negativ în limfangioame. Prin urmare, acest lucru ar susține cu fermitate o puternică origine vasculară pentru elementele celulelor fusiforme din sarcomul Kaposi.

Considerații similare se aplică și pentru CD31. De asemenea, CD31 este folosit pentru marcarea endoteliului vascular, mai degrabă decât a celui limfatic. Prin urmare, se pare că, în sarcomul Kaposi markerii CD34 și CD31 nu ajută la diferențierea între celulele provenite din endoteliul vascular sau limfatic. Mai degrabă sugerează ca profilul imunohistochimic al celulelor endoteliale din sarcomul Kaposi sunt diferite de cele existente în țesutul normal. În plus, caracterul multifocal al sarcomului Kaposi indică faptul că mai mult de un singur tip de celule endoteliale ar putea fi implicat în histogeneza acestuia.

lymphatic endothelium, and also has been reported as negative in lymphangiomas. If so, this would strongly favour a vascular origin for the spindle cell elements in Kaposi sarcoma.

Similar considerations apply to CD31. Also, CD31 is thought to label vascular rather than lymphatic endothelium. It would seem therefore that in Kaposi sarcoma CD34 and CD31 markers do not help to distinguish between cells derived from lymphatic or vascular endothelium. Rather it suggests that the immunocytochemical profile of the endothelial derived cells in Kaposi sarcoma are unlike those found in normal tissue. In addition, the multifocal nature of Kaposi sarcoma indicates that more than one type of endothelial cell could be involved in its histogenesis.

Conclusions

In most cases, histological findings are sufficient to identify the positive diagnosis of Kaposi's sarcoma. There is however a limited number of cases, especially those rare histological variants which need further immunohistochemical and molecular investigations in order to clarify a final diagnosis. The

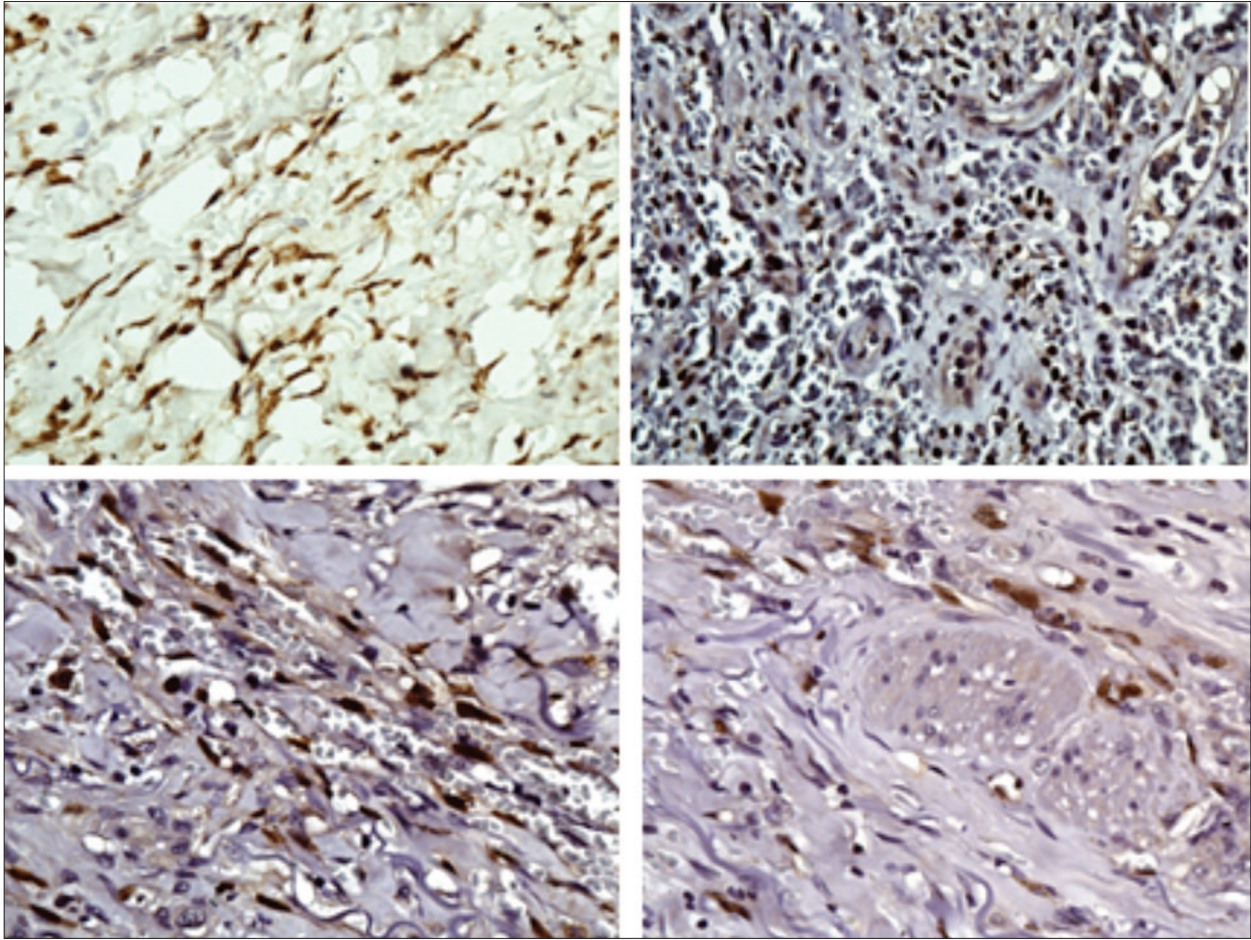


Fig. 3. Kaposi HHV8 pozitiv în nucleii celulelor tumorale, negativ în celulele endoteliale normale. HHV8x 200
 Fig. 3. KS HHV-8 positive in the nuclei of tumor cells, negative in normal endothelial cells

Concluzii

De cele mai multe ori aspectele histologice descrise anterior sunt suficiente pentru stabilirea diagnosticului pozitiv de sarcom Kaposi. Există totuși, un număr redus de situații, în special în cazul variantelor histologice rare care necesită investigații suplimentare, imunohistochimice și moleculare pentru stabilirea diagnosticului final. Diferențierea sarcomului Kaposi de alte tumori vasculare benigne și maligne precum și de alte neoplasme nonvasculare de țesuturi moi cu celule fusiforme poate uneori să fie dificilă. Astfel, pentru cazurile în care caracteristicile clinice și histologice conduc la dileme de diagnostic, imunohistochimia pare să reprezinte cel mai bun instrument de diagnostic.

differentiation of Kaposi sarcoma from other benign or malignant vascular tumors as well as from other nonvascular spindle cell soft-tissue neoplasms may, on occasion, be difficult. Thus, for cases where the clinical and histological features leading to diagnostic dilemmas, immunohistochemistry appears to represent the better diagnostic tool.

Bibliografie/ Bibliography

1. Schwartz RA, Micali G, Nasca MR, Scuderi L. Kaposi sarcoma: a continuing conundrum. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2008;59(2):179-206; quiz 7-8.
2. van Kessel A, Quint KD. [Moritz Kaposi and his sarcoma]. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. 2011;155(45):A3879.
3. Mbulaiteye SM, Parkin DM, Rabkin CS. Epidemiology of AIDS-related malignancies an international perspective. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2003;17(3):673-96, v.
4. Avey D, Brewers B, Zhu F. Recent advances in the study of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus replication and pathogenesis. *Virologica Sinica*. 2015;30(2):130-45.
5. Minhas V, Wood C. Epidemiology and transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Viruses*. 2014;6(11):4178-94.
6. Stiller CA, Trama A, Brewster DH, Verne J, Bouchardy C, Navarro C, et al. Descriptive epidemiology of Kaposi sarcoma in Europe. Report from the RARECARE project. *Cancer epidemiology*. 2014;38(6):670-8.
7. Armstrong AW, Lam KH, Chase EP. Epidemiology of classic and AIDS-related Kaposi's sarcoma in the USA: incidence, survival, and geographical distribution from 1975 to 2005. *Epidemiology and infection*. 2013;141(1):200-6.
8. Pinzone MR, Berretta M, Cacopardo B, Nunnari G. Epstein-barr virus- and Kaposi sarcoma-associated herpesvirus-related malignancies in the setting of human immunodeficiency virus infection. *Seminars in oncology*. 2015;42(2):258-71.
9. Radu O, Pantanowitz L. Kaposi sarcoma. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2013;137(2):289-94.
10. Saberi S, Safai Naraghi Z, Granser A, falah azad V. Immunohistochemical Detection of the Human Herpes Virus 8 (HHV8) Latent Nuclear Antigen-1 in Kapasi Sarcoma Cases. *Iranian Journal of Pathology*. 2011;6(2):73-8.
11. Rosado FG, Itani DM, Coffin CM, Cates JM. Utility of immunohistochemical staining with FLI1, D2-40, CD31, and CD34 in the diagnosis of acquired immunodeficiency syndrome-related and non-acquired immunodeficiency syndrome-related Kaposi sarcoma. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2012;136(3):301-4.
12. Lowell Goldsmith SK, Barbara Gilchrest, Amy Paller, David Leffell, Klaus Wolff Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 8th ed. ed2012.
13. Jennings RN, Miller MA, Ramos-Vara JA. Comparison of CD34, CD31, and factor VIII-related antigen immunohistochemical expression in feline vascular neoplasms and CD34 expression in feline nonvascular neoplasms. *Veterinary pathology*. 2012;49(3):532-7.
14. Lee1 KBLHS, Park1 HELSY, Chung1 JH, Choe1 G, Kim WH, Song2 KY. Immunohistochemical Characteristics of Kaposi Sarcoma and its Mimicries. *The Korean Journal of Pathology*. 2006(40): 361-7).
15. Ganem D. KSHV and the pathogenesis of Kaposi sarcoma: listening to human biology and medicine. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120(4):939-49.
16. Nagata N, Igari T, Shimbo T, Sekine K, Akiyama J, Hamada Y, et al. Diagnostic value of endothelial markers and HHV-8 staining in gastrointestinal Kaposi sarcoma and its difference in endoscopic tumor staging. *World journal of gastroenterology*. 2013;19(23):3608-14.
17. D. E. Elder RE, B. L. Johnson, and G. F. Murphy. *Lever's Histopathology of the Skin*, , Eds., pp. 867-868, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa, USA, 9th edition, 2005.
18. Perry C, Chung JY, Ylaya K, Choi CH, Simpson A, Matsumoto KT, et al. A Buffered Alcohol-Based Fixative for Histomorphologic and Molecular Applications. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2016.
19. Cohen A, Wolf DG, Guttman-Yassky E, Sarid R. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2005;42(2):101-53.
20. Elder DEE, Rosalie; Johnson, Bernett L.; Murphy, George F. Kaposi sarcoma. *Lever's Histopathology of the Skin*. 9th Edition. ed2014.
21. Mansouri M, Douglas J, Rose PP, Gouveia K, Thomas G, Means RE, et al. Kaposi sarcoma herpesvirus K5 removes CD31/PECAM from endothelial cells. *Blood*. 2006;108(6):1932-40.
22. Pantanowitz L, Moses AV, Fruh K. CD31 immunohistochemical staining in Kaposi Sarcoma. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2012;136(11):1329; author reply 30.

Conflict de interese
NEDECLARATE

Conflict of interest
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: Alexandra Limbău, MD, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București
E-mail: alexandra_021286@yahoo.fr

Correspondance address: Alexandra Limbau, MD, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania
E-mail: alexandra_021286@yahoo.fr