

Penggunaan Uji Immunohistokimia BerEP4 sebagai *Gold Standard* Deteksi Karsinoma Sel Basal

SUKMAWATI TANSIL TAN¹ DAN ANTHONY PAULO SUNJAYA²

¹Departemen Ilmu Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

²Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

Diterima: 3 Desember 2015; Direview: 4 Januari 2016; Disetujui: 28 Maret 2016

ABSTRACT

Basal Cell Carcinoma (BCC) is the most common malignant type of skin cancer found in the world today with a 3-10% increase in incidence each year. In Indonesia, BCC is one of the major types of skin cancer found. Therefore a method needs to be developed that can detect BCC at the early stages to prevent late diagnosis of BCC which may lead to metastasis causing disabilities to patients and increasing treatment costs.

Various studies have shown BerEP4 as an effective and efficient tool that can be used for early diagnosis and prevention of recurrence post-surgery. This study aims to evaluate the use of BerEP4 in detecting early BCC cells and its potential as a gold standard. The use of BerEP4 immunohistochemistry testing as a gold standard for the routine examination for cases of BCC is expected to be able to increase and improve early diagnosis as well as prevent recurrence post-surgery.

Keyword: Basal Cell Carcinoma (BCC), immunohistochemistry, BerEP4, gold standard

ABSTRAK

Karsinoma Sel Basal (KSB) merupakan jenis kanker kulit yang paling banyak ditemukan di dunia saat ini dan terjadi peningkatan 3-10% jumlah penderita KSB setiap tahun. Di Indonesia, KSB merupakan salah satu jenis kanker kulit yang utama. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu metode yang dapat mendeteksi KSB pada stadium awal karena diagnosis yang terlambat dapat menyebabkan KSB bermetastasis sehingga menjadi sulit ditangani, meningkatkan risiko penderita menjadi cacat, dan memerlukan biaya pengobatan yang mahal.

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa BerEP4 merupakan cara yang efektif dan efisien untuk melakukan diagnosis dini dan pencegahan rekurensi pasca-operasi pengangkatan KSB. Penelitian ini bertujuan untuk menilai manfaat BerEP4 dalam mendeteksi sel KSB tahap dini. Diharapkan penggunaan uji immunohistokimia BerEP4 bisa menjadi *gold standard* pemeriksaan rutin pada kasus-kasus KSB sehingga mampu meningkatkan dan mempermudah diagnosis dini KSB serta mencegah terjadinya rekurensi pasca-operasi pengangkatan KSB.

Kata Kunci: Karsinoma Sel Basal (KSB), immunohistokimia, BerEP4, *gold standard*

PENDAHULUAN

Karsinoma Sel Basal (KSB) merupakan kanker kulit yang paling banyak ditemukan pada manusia saat ini.¹ The American Cancer Society melaporkan bahwa 8 dari 10 penderita kanker kulit merupakan penderita KSB dan ditemukan lebih dari 2 juta kasus baru setiap tahun.² Terjadi peningkatan penderita KSB sebesar 3-10% di dunia setiap tahun.^{3,4}

KORESPONDENSI:

dr. Sukmawati Tansil Tan,
SpKK

Departemen Ilmu Kulit
dan Kelamin Fakultas

Kedokteran Universitas
Tarumanagara, Ged J

Kampus 1 Universitas
Tarumanagara,

Jl. Letjen S Parman

No. 1, Jakarta,

Telephone: 021-98896610,

Fax: 021-6402913

Email:

sukma_tsl@yahoo.com

KSB pertama kali ditemukan oleh Jacob pada 1827 dan diberi nama “*ulcus rodens*”. KSB merupakan kanker kulit *non-melanocytic* yang tumbuh dari sel-sel basal epidermis dan folikel-folikel yang terdapat pada kulit, terutama yang sering terkena sinar matahari.⁵

KSB disebabkan oleh paparan radiasi ultraviolet yang sering, terutama ultraviolet spektrum B (UV-B) dengan panjang gelombang 290-320 nm yang menginduksi mutasi pada gen penekan tumor. Radiasi UV-B menyebabkan kerusakan pada DNA dan berdampak pada sistem imun p53. Dalam jangka panjang, perubahan genetik tersebut dapat menyebabkan neoplasma. Dampak kerusakan akibat UV-B bisa terjadi sejak masa muda (umur 20-30 tahun) dan masa laten, yaitu sejak terjadi kerusakan akibat paparan sinar UV sampai menjadi KSB (sekitar 20-50 tahun).^{3,6}

Hal di atas menjelaskan mengapa KSB lebih sering ditemukan pada penduduk yang hidup di daerah dekat khatulistiwa seperti Australia dan Indonesia dibandingkan dengan yang jauh dari khatulistiwa seperti Finlandia. Selain itu, seseorang yang berkulit lebih putih dengan kadar melanin kulit menurun seperti pada lansia, lebih rentan terkena KSB dibanding seseorang dengan warna kulit lebih gelap. KSB memiliki prevalensi 19 kali lebih besar pada orang berkulit putih dibanding berkulit gelap.³

Salah satu risiko paling utama KSB adalah akibat paparan radiasi ultraviolet dosis tinggi pada masa kanak-kanak dan remaja. KSB bersifat invasif lokal, kemampuan metastasis rendah, dan mudah diterapi dengan bedah eksisi asalkan dapat didiagnosis pada tahap dini.¹

Penelitian ini dilakukan untuk menilai kegunaan uji imunohistokimia (IHK) BerEP4 untuk mendeteksi karsinoma sel basal pada tahap dini dan potensinya sebagai *gold standard* untuk deteksi KSB.

Pada tahun 2000-2009, data Poliklinik Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin (IKKK) Rumah Sakit dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) melaporkan KSB sebagai jenis kanker kulit yang paling sering ditemukan dengan 261 kasus, diikuti oleh KSS (Karsinoma Sel Skuamosa) 69 kasus, dan melanoma 22 kasus.⁷ Data yang diperoleh dari Sub Bagian Onkologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/RSUP Dr. M. Djamil, Padang, juga menunjukkan jenis kanker kulit terbanyak yang ditemukan adalah KSB, disusul KSS dan melanoma maligna.⁸

KSB juga ditemukan dua kali lebih banyak pada pria daripada wanita. Seseorang akan lebih rentan terkena KSB seiring dengan bertambahnya usia.^{3,6}

Beberapa faktor risiko KSB antara lain keturunan, paparan radiasi ultraviolet, arsenik, radiasi, penggunaan *sunbed*, serta adanya trauma kronis seperti ulserasi, luka bakar, trichotillomania, nevus sebaceous, supresi imun, dan kelainan genodermatosa seperti Xeroderma pigmentosum, sindrom Rombo, dan lain-lain.⁹ Dalam beberapa dekade terakhir, telah terjadi perbaikan pada prognosis penderita KSB. Akan tetapi, rekurensi masih tetap ditemukan karena ada sisa-sisa sel KSB yang tidak terangkat atau tidak terdeteksi dengan pemeriksaan histopatologis yang merupakan standard baku saat ini. KSB yang rekuren ini akan memiliki prognosis yang lebih buruk dan berisiko lebih besar untuk menyebar.¹

KSB biasanya berevolusi pelan dan asimtomatik. Terjadi pendarahan pada saat terkena trauma ringan merupakan gejala awal yang mungkin terlihat. KSB sering kali ditemukan pada wajah dan di belakang telinga. KSB dapat dideteksi dengan pemeriksaan yang teliti menggunakan lampu yang terang, kaca pembesar, palpasi yang hati-hati, dan dengan *dermoscopy*. Diagnosis hanya dapat dipastikan setelah dilakukan pemeriksaan patologi anatomi dari sediaan kulit.^{3,10}

Saat ini, pemeriksaan histopatologis merupakan *gold standard* untuk memeriksa jaringan yang diduga terkena KSB guna mengonfirmasi diagnosis klinis dan *dermatoscopy* KSB. Akan tetapi, pemeriksaan histopatologis tidak selalu dapat mendiagnosis secara tepat dan membedakan beberapa jenis KSB yang mirip secara morfologis dengan karsinoma jenis lain seperti ameloblastoma perifer atau karsinoma basoskuamosa.¹¹⁻¹⁴

Penelitian oleh Mosterd *et al.*, menunjukkan bahwa ketepatan diagnosis subtype KSB primer yang diidentifikasi dengan pemeriksaan histopatologis adalah 80,7%. Untuk mendiagnosis KSB rekuren dengan pemeriksaan histopatologis akan lebih sulit karena pertumbuhan KSB rekuren terputus-putus akibat pembentukan luka parut.¹⁵

MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif yang dilaksanakan di Healthscope Laboratory, Perth, Australia. Penelitian ini dilakukan menggunakan semua kasus yang telah didiagnosis KSB di Healthscope Laboratory antara 2010 hingga 2011. Populasi penelitian adalah jaringan KSB stadium dini yang telah diparafinisasi di Healthscope Laboratory. Kriteria inklusi adalah KSB stadium dini dan memenuhi syarat untuk dilakukan pemeriksaan

imunohistokimia (IHK). Kriteria eksklusi adalah terdapat kanker lain selain KSB. Ditemukan 23 sampel preparat jaringan kulit patologi anatomi yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel blok parafin dikelompokkan berdasarkan subtipe KSB. Dari blok parafin kemudian dilakukan pemeriksaan antibodi (Ab) BerEP4 dengan teknik imunohistokimia.

Prosedur Penelitian

1. Sampel diambil dari jaringan dalam bentuk parafin blok.
2. Setiap blok parafin dipotong dengan mikrotom ukuran 4 mikron dan diletakkan pada objek gelas. Dari tiap blok parafin yang dipotong, satu sediaan diwarnai dengan hematoxilin eosin untuk pemeriksaan histopatologi, sementara 3 sediaan lainnya digunakan untuk pewarnaan imunohistokimia.
3. Selanjutnya, 3 potongan dari masing-masing sampel diwarnai HE untuk menentukan diagnosis dan lokasi KSB.
4. Tiga potongan masing-masing sampel diwarnai dengan Ab BerEP4 untuk diagnosis dan menentukan lokasi lesi KSB, batas-batas lesi, dan jumlah sel dalam tiap lesi.
5. Pemeriksaan IHK dengan mesin Ventana Roche Benchmark XT.
6. Ab BerEP4 dari Ventana Roche *pre-diluted antibody, HIER Protease 1 for 4 mins, antibody at 37°C for 16 mins*. Diwarnai dengan *Brown counterstain ultraview DAB kit*.
7. Hasil-hasil pewarnaan preparat tersebut dengan HE dan IHK BerEP4. Masing-masing dilakukan pemotretan dengan mikroskop elektron Olympus FS XP 10. Awalnya pemotretan dilakukan untuk satu preparat secara utuh, lalu tiap-tiap lesi, dari sebelah kiri sampai lesi terakhir di sebelah kanan. Kemudian lesi-lesi yang identik dari masing-masing pewarnaan akan disandingkan sebagai pembandingan perbedaan masing-masing pewarnaan.
8. Hasil pewarnaan BerEP4 dievaluasi warnanya dan dibandingkan dengan HE, dinilai intensitas warna dan persentasi warna, batas lesi, lokasi lesi pada daerah basal, infundibulum, interfolikuler, folikel rambut, jumlah sel dalam tiap lesi 1-15 sel, 15-30 sel, lebih dari 30 sel.

HASIL

Penelitian dilakukan dari 2010 sampai 2011 dengan 23 preparat jaringan kulit patologi anatomi yang memenuhi kriteria inklusi dan berasal dari berbagai

bagian tubuh. Umur pasien termuda yang dijadikan sampel penelitian adalah 44 tahun dan tertua 88 tahun. Rerata usia subjek 69 tahun, sesuai dengan kepustakaan di mana masa laten KSB sekitar 20-50 tahun sehingga lebih sering ditemukan pada lansia.^{3,6}

Tabel 1: Karakteristik sampel yang digunakan

Karakteristik	N	%
Gender		
Wanita	10	43,5
Pria	13	56,5
Tahun		
2010	7	30,4
2011	16	69,6
Umur (Mean)	68,73	
Jenis KSB		
Multifokal Superfisial	20	87
Noduler	3	13

Dari 23 preparat yang digunakan, tampak 394 lesi, 380 lesi pada lapisan basal epidermis interfolikuler dan 14 lesi pada bagian infundibulum folikel rambut.

PEMBAHASAN

Saat ini tersedia berbagai macam penanda imunohistokimia yang dapat digunakan untuk mendiagnosis karsinoma, antara lain EMA, BerEP4, CK-20, CD 10, bcl-2, dan lain-lain. Dari berbagai macam penanda di atas, penelitian oleh Alhumaidi (2012) menunjukkan bahwa BerEP4 merupakan penanda yang selalu memberikan hasil positif pada KSB.¹⁶

BerEP4 merupakan antibodi monoklonal yang dapat digunakan sebagai penanda KSB. BerEP4 dibuat dari garis sel karsinoma mammae manusia (MCF-7) dan tikus. Bergantung pada jenis BerEP4 yang digunakan, penanda ini dapat mendeteksi glycopeptida dengan massa 34 kD, 39 kD, dan 40 kD.^{14,17}

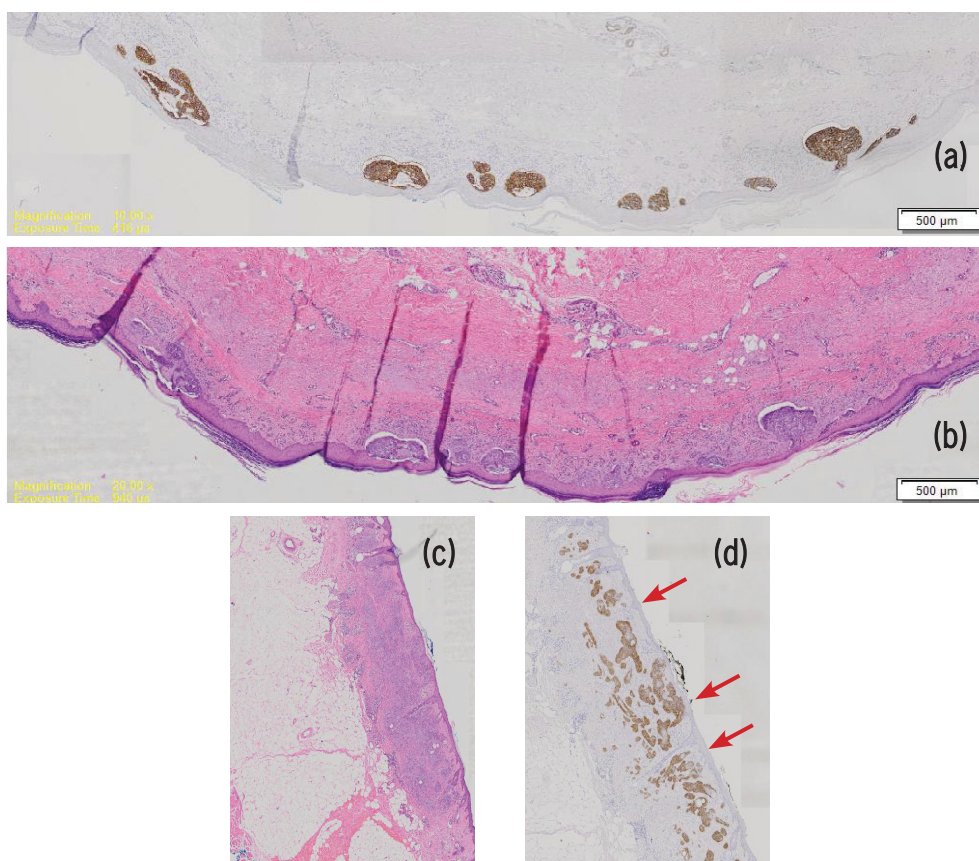
Penelitian oleh Maetzel *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa EpCAM memiliki peran dalam persinyalan sel, proliferasi, adhesi, migrasi, dan diferensiasi sel. EpCAM ditemukan berlebihan (*overexpressed*) pada sel-sel progenitor epitel, karsinoma, dan sel-sel pemicu kanker. Ia juga dapat bekerja sebagai molekul persinyalan onkogenik melalui jalur persinyalan Wnt.¹⁸

Dalam penelitian ini, pewarnaan BerEP4 dilakukan pada 23 kasus KSB yang memiliki 394 mikrolesi dan menunjukkan hasil 100% positif kuat dengan hasil akhir sensitivitas dan spesifisitas 100%. Lesi KSB

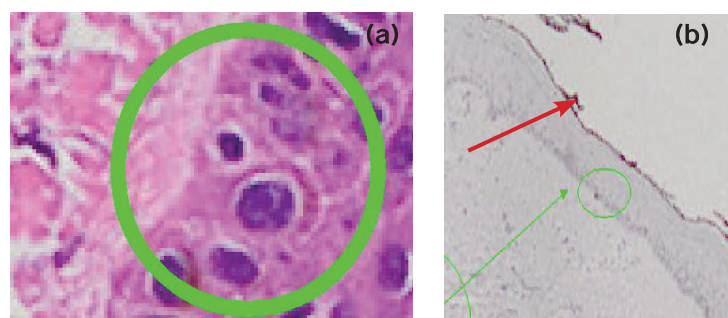
yang ditemukan bervariasi, dari kumpulan puluhan sel KSB hingga lesi yang sangat awal dan baru, terdiri atas 4 hingga 15 sel KSB.

BerEP4 dengan jelas menunjukkan KSB berasal dari lapisan basal epidermis (interfolikel) dan infundibulum dari folikel rambut dengan beberapa kelompok juga ditemukan pada lapisan basal intermiten dan berinfiltrasi hingga ke bagian dermis. Ketiga preparat KSB noduler menunjukkan pertumbuhan yang mengarah ke dermis walaupun masih memiliki bagian yang menempel pada lapisan basal epidermis.

Dalam penelitian ini, BerEP4 terbukti dapat mendeteksi dan memberikan hasil positif pada KSB tahap dini yang baru, terdiri atas beberapa sel. Dibandingkan dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE), penggunaan pewarnaan IHK BerEP4 juga mempermudah identifikasi spesimen KSB dengan banyak lesi. Selain itu, BerEP4 juga dapat menandai sel-sel muda yang telah bermutasi yang akan berpotensi menyebabkan KSB pada masa yang akan datang.



Gambar 1: Perbandingan hasil pewarnaan dengan Hematoxylin & Eosin (HE) (a & c) dan imunohistokimia BerEP4 (b & d) pada KSB dengan multipel mikrolesi yang tersebar sepanjang lapisan epidermis yang sulit didiagnosis dengan pewarnaan rutin HE.



Gambar 2: Perbandingan hasil pewarnaan dengan Hematoxylin dan Eosin (HE) dan imunohistokimia BerEP4 (b) pada lesi KSB yang hanya baru 1 sel dan sulit didiagnosis dengan pewarnaan rutin HE.

Penelitian oleh Mashhood *et al.*, (2011) untuk mencari sensitivitas dan spesifisitas BerEP4 dalam penggunaannya pada pasien yang berasal dari Asia melaporkan bahwa BerEP4 memiliki sensitivitas dan spesifisitas 100%. Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan sensitivitas dan spesifisitas yang dihitung berdasarkan rangkuman hasil penelitian penggunaan BerEP4 di bawah ini, yang menunjukkan sensitivitas BerEP4 sebagai 100% dan spesifisitas BerEP4 sebagai 99,15%.¹⁹

Hasil penelitian di atas sependapat dengan beberapa penelitian terdahulu yang menggunakan BerEP4 untuk mendeteksi kasus KSB yang dilakukan oleh Dasgeb *et al.*, (2013) pada 24 KSB dan Sellheyer *et al.*, (2013) pada 17 KSB morfeaform yang memberikan hasil 100% positif. Sejalan juga dengan yang dilaporkan oleh Krahl & Sellheyer (2007) yang melakukan pengujian dengan BerEP4 pada 28 KSB Sklerosing dan Infiltratif dengan hasil 28 KSB positif, di mana 27 positif kuat hingga sedang dan satunya lagi positif lemah. Penelitian lain yang dilakukan oleh Karahan *et al.*, (2006) terhadap 20 spesimen KSB juga menunjukkan hasil 100% positif.^{14,17,20,21}

Berkat spesifisitas dan sensitivitas pewarnaan dengan uji IHK BerEP4, beberapa kasus KSB yang sangat jarang ditemukan dapat dipastikan dan didiagnosis sebagai KSB hasilnya menunjukkan positif kuat. Empat kasus KSB yang berlokasi di aksila dan jarang ditemukan karena jarang terpapar matahari, dapat didiagnosis dengan uji imunohistokimia BerEP4.²²

Dua kasus KSB jenis metatipikal yang memiliki tingkat rekurensi yang tinggi pasca-operasi dan berisiko metastasis tinggi^{23,24} serta dua kasus KSB granuler yang ditemukan Claassen *et al.*, (2014) dan

Jedrych & Busam (2014) juga berhasil didiagnosis dengan uji imunohistokimia BerEP4.^{25,26}

Salah satu penelitian oleh Patil *et al.*, (2013) menggunakan penanda BerEP4 untuk mengidentifikasi KSB di bagian anal, karsinoma yang jarang sekali ditemukan dan sulit dibedakan dengan karsinoma skuamosa basaloid dengan teknik biopsi. Pada penelitian ini, spesimen terdiri dari 9 KSB dan 15 karsinoma skuamosa basaloid. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pewarnaan BerEP4 ditemukan tersebar (*diffuse*) pada semua KSB. Penelitian ini juga didukung oleh Kreuter *et al.*, (2012) di mana hasil pewarnaan imunohistokimia dengan BerEP4 pada sediaan tumor perianal menunjukkan hasil yang positif kuat.^{27,28}

Laporan kasus KSB intraoral yang didapat juga menunjukkan bahwa penggunaan BerEP4 dapat membantu membedakan KSB intraoral dengan ameloblastoma perifer yang memiliki gambaran histologis yang mirip.^{12,13,39}

Kegunaan utama BerEP4 adalah kemampuannya dalam membedakan KSB dengan Karsinoma Sel Skuamosa (KSS). Data dari berbagai penelitian yang dikumpulkan oleh Sellheyer *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa dari 75 kasus KSS yang diwarnai BerEP4, seluruhnya memberikan hasil yang negatif. Hasil penelitian yang sama juga diperoleh oleh Karahan *et al.*, (2006) dan Dasgeb *et al.* (2013).^{14,17,21} Selain itu, penelitian Karahan *et al.*, juga menunjukkan kegunaan yang penting BerEP4 dalam menegaskan diagnosis karsinoma basoskuamosa (KBS) yang sulit diidentifikasi dan didiagnosis secara definitif saat ini. Hal ini dapat disebabkan oleh karsinoma basoskuamosa yang merupakan tumor mirip KSB dengan daerah diferensiasi skuamosa memiliki profil

imunohistokimia yang mirip dengan KSB. BerEP4 juga dapat digunakan untuk membedakan *collision tumor*, sejenis tumor yang merupakan campuran KSB dan KSS.¹⁴ *Actinic keratosis, seborrheic keratosis, lichenplanus like keratosis, nevi, hemangioma, inverted follicular keratosis, sebaceous adenoma, microcystic adnexal carcinoma (MAC)*, dan *sebaceoma* merupakan berbagai macam kelainan kulit yang telah dibuktikan memberikan hasil negatif pada uji BerEP4. Dengan demikian, uji imunohistokimia BerEP4 dapat membedakan KSB dari kelainan-kelainan kulit yang sering ditemukan di atas.^{17,21,30} Kekurangan BerEP4 adalah pada ketidakmampuannya dalam membedakan antara KSB dengan *trichoepithelioma*, *trichoblastoma*, dan karsinoma sel merkel. Untuk membedakan *trichoepithelioma* dan *trichoblastoma* dengan KSB diperlukan penggunaan uji imunohistokimia lain.^{17,21,31,32} Dari beberapa penelitian di atas, terlihat bahwa dengan menggunakan uji imunohistokimia BerEP4 terdapat perbedaan hasil sensitivitas dan spesifisitas yang dapat disebabkan oleh penggunaan antigen BerEP4 yang berbeda, pewarnaan dasar dari spesimen yang diuji, lama penyimpanan spesimen yang digunakan (terutama bila spesimen berasal dari arsip dermatopatologi), pengalaman dalam melakukan pemeriksaan uji imunohistokimia BerEP4, perbedaan dalam teknik pewarnaan, alat-alat yang digunakan, serta tingkat stadium lesi yang didiagnosis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa uji imunohistokimia dengan BerEP4 memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi serta telah terbukti mampu meningkatkan akurasi dalam mendeteksi sel-sel KSB dibandingkan dengan metode konvensional Hematoxylin & Eosin yang sekarang banyak digunakan. BerEP4 bahkan mampu mendeteksi sel-sel yang dalam jumlah sangat kecil sehingga dapat meningkatkan kemampuan deteksi dini KSB dan akan meminimalkan dampak negatif yang ditimbulkan oleh KSB yang terlambat ditangani seperti metastasis, kecacatan, dan bahkan kematian.^{33,34} Oleh karenanya, uji imunohistokimia BerEP4 berpotensi untuk dijadikan *gold standard* untuk pemeriksaan KSB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chinem VP, Miot HA. Epidemiology of basal cell carcinoma. *An. Bras. Dermatol.* 2011; 86(2).
2. Kasper M, Jaks V, Hohl D, Toftgard R. Basal cell carcinoma — molecular biology and potential new therapies. *J Clin Invest.* 2012;122(2):455-63.
3. Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffel DJ, Wolff K, editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 8th ed.: McGraw-Hill; 2012.
4. Flohil S, Seubring I, van Rossum M, Coebergh J, de Vries E, Nijsten T. Trends in Basal Cell Carcinoma Incidence Rates: A 37-Year Dutch Observational Study. *J Invest Dermatol.* 2013;133(4).
5. Kumar S, Mahajan BB, Kaur S, Yadav A, Singh N, Singh A. A Study of Basal Cell Carcinoma in South Asians for Risk Factor and Clinicopathological Characterization: A Hospital Based Study. *J Skin Cancer.* 2014;2014.
6. Bader RS, Santacroce L, Diomedea L, Kennedy AS. Basal Cell Carcinoma Medscape Emedicine. [Online].; 2014 [cited 2015 01 06. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/276624-overview#a0156>.
7. Suriadiredja AS. Epidemiologi kanker kulit. *MDVI.* 2011; 38(2):61.
8. Azamris. Kanker Kulit di Bangsal Bedah RS Dr. M. Djamil Padang Januari 2002 - Maret 2007. *Cermin Dunia Kedokteran.* 2011;38(2):109-10.
9. Goppner D, Leverkus M. Basal Cell Carcinoma: From the Molecular Understanding of the Pathogenesis to Targeted Therapy of Progressive Disease. *J Skin Cancer.* 2011;2011.
10. Wolff K, Johnson RA. *Fitzpatrick's Color Atlas & Synopsis of Clinical Dermatology*. 6th ed.: McGraw-Hill; 2009.
11. Li G, Tietze J, Kulichova D, Ruzicka T, Berking C, Maier T. High-Definition Optical Coherence Tomography in the Diagnosis of Basal Cell Carcinoma Evaluated by an Experienced Versus Inexperienced Investigator. *J Clin Exp Dermatol Res.* 2014;5(4).
12. Woods TR, Cohen DM, Islam MN, Kratochvil FJ, Stewart JCB, Reeder SL, et al. Intraoral Basal Cell Carcinoma, a Rare Neoplasm: Report of Three New Cases with Literature Review. *Head Neck Pathol.* 2014;8(3):339-48.
13. Koutlas I, Koch CA, Vickers RA, Brouwers FM, Vortmeyer AO. An unusual ostensible example of intraoral basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2009;36(4):464-70.
14. Karahan N, Baspinar S, Yildirim M, Barut I. The use of Ber-EP4 antigen in the differential diagnosis of basosquamous carcinoma from squamous and basal cell carcinoma. *Türk Patoloji Dergisi.* 2006;22(2):87-91.

15. Mosterd K, Thissen M, van Marion A, Nelemans P, Lohman B, Steijlen B, et al. Correlation between histologic findings on punch biopsy specimens and subsequent excision specimens in recurrent basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2011; 64(2):323-7.
16. Alhumaidi A. Practical immunohistochemistry of epithelial skin tumor. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2012;78(6): 698-708.
17. Dasgeb B, Mohammadi TM, Mehregan DR. Use of Ber-EP4 and Epithelial Specific Antigen to Differentiate Clinical Simulators of Basal Cell Carcinoma. *Biomark Cancer*. 2013;5:7-11.
18. Maetzel D, Denzel S, Mack B, Canis M, Went P, Benk M, et al. Nuclear signalling by tumour-associated antigen EpCAM. *Nat Cell Biol*. 2009; 11(2):162-71.
19. Mashhood AA, Sarfraz T, Atique M, Asif M. Sensitivity and Specificity of Ber-EP4 Immunostaining in Basal Cell Carcinoma Cases in Asian Skin. *Pakistan Armed Forces Medical Journal*. 2011;(3).
20. Krahl D, Sellheyer K. Monoclonal antibody Ber-EP4 reliably discriminates between microcystic adnexal carcinoma and basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol*. 2007;34(10):782-7.
21. Sellheyer K, Nelson P, Kutzner H, Patel RM. The immunohistochemical differential diagnosis of microcystic adnexal carcinoma, desmoplastic trichoepithelioma and morpheiform basal cell carcinoma using BerEP4 and stem cell markers. *J Cutan Pathol*. 2013; 40:363-70.
22. Costescu M, Coman OA, Tampa M, Irina T, Coman L, Georgescu SR. Axillary basal cell carcinoma – a rare form of a frequent kind of carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*. 2013; 54(3 Suppl): 851-56.
23. Tchernev G, Ananiev J, Cardoso JC, Wollina U. Metatypical Basal Cell Carcinomas: a Successful Surgical Approach to Two Cases with Different Tumor Locations. *MAEDICA*. 2014;9(1):79-82.
24. Tarallo M, Cigna E, Frati R, Delfino S, Innocenzi D, Fama U, et al. Metatypical basal cell carcinoma: a clinical review. *J Exp Clin Cancer Res*. 2008;27(1):65.
25. Claassen SL, Royer MC, Rush WL. Granular cell basal cell carcinoma: report of a case and review of the literature. *Am J Dermatopathol*. 2014;36(7):121-4.
26. Jedrych J, Busam KJ. Multiple lesions of granular cell basal cell carcinoma: a case report. *J Cutan Pathol*. 2014; 41(1):45-50.
27. Patil DT, Goldblum JR, Billings SD. Clinicopathological analysis of basal cell carcinoma of the anal region and its distinction from basaloid squamous cell carcinoma. *Modern Pathology*. 2013; 26: p. 1382-89.
28. Kreuter A, Bechara FG, Stucker M, Brockmeyer NH, Altmeyer P, Wieland U. Perianal basal cell carcinoma unusual localization of a frequent tumor. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2012; 10(1): p. 59-61.
29. Sook KY, Keun LS. Different Protein Expressions between Peripheral Ameloblastoma and Oral Basal Cell Carcinoma Occurred at the Same Mandibular Molar Area. *Korean J Pathol*. 2014;48(2):151-58.
30. Fan YS, Carr RA, Sanders DS, Smith AP, Lazar AJ, Calonje E. Characteristic Ber-EP4 and EMA expression in sebaceoma is immunohistochemically distinct from basal cell carcinoma. *Histopathology*. 2007;51(1):80-6.
31. Bozinovic MT, Krasic D, Katic V, Rancic D, Krstic M, Djordjevic JJ, et al. Comparative analysis of clinicopathological and immunohistochemical characteristics of Merkel cell carcinoma. *J BUON*. 2014;19(2):530-4.
32. Ansai S, Takayama R, Kimura T, Kawana S. Ber-EP4 is a useful marker for follicular germinative cell differentiation of cutaneous epithelial neoplasms. *J Dermatol*. 2012;39(8):688-92.
33. Raflizar, Nainggolan O. Faktor Determinan Tumor/Kanker Kulit di Pulau Jawa (Analisa Data Riskesdas 2007). *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 2010;13(4):386-93.
34. Filho L, de Oliveira de Avelar Alchorne A, Pereira GC, Lopes L, de Carvalho T. Histological and immunohistochemical evaluation of basal cell carcinoma following curettage and electrodesiccation. *Int J Dermatol*. 2008;47(6):610-4.