

HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI *CYCLIN D1* DAN *SMOOTH MUSCLE ACTIN* DENGAN KARSINOMA SEL BASAL KELOMPOK RISIKO REKURENSI RENDAH DAN TINGGI

Berlian Anggraeni Putri¹✉, Diah Prabawati Retnani¹, Hendy Setyo Yudhanto¹, Holipah²
Rose Khasana Dewi¹, Hery Susilo³

Abstrak

Kanker kulit yang tersering dikelompokkan menjadi kanker kulit melanositik dan nonmelanositik. Kanker kulit nonmelanositik menempati urutan kelima terbanyak dari seluruh jenis kanker di dunia dengan jenis yang paling sering adalah karsinoma sel basal. Secara histopatologis karsinoma sel basal dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok risiko rekurensi rendah dan tinggi. Sifat Karsinoma sel basal yang proliferasif dan invasif membutuhkan marker yang dapat memprediksi keduanya, di antaranya adalah *cyclin D1* dan *smooth muscle actin* (SMA). Penelitian ini untuk membuktikan adanya hubungan antara ekspresi *cyclin D1* dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rendah dan tinggi. Desain penelitian adalah observasional analitik dengan metode *cross-sectional*, sampel penelitian karsinoma sel basal ditetapkan sebanyak 30 sampel, terdiri dari 15 sampel kelompok risiko rekurensi rendah dan 15 sampel kelompok risiko rekurensi tinggi. Ekspresi *cyclin D1* dan SMA pada sediaan imunohistokimia dinilai secara semi kuantitatif pada masing-masing kelompok kemudian akan dilakukan uji *chi-square*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi *cyclin D1* memiliki hubungan dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah dan tinggi ($p = 0,008 < 0,05$), namun tidak berhubungan dengan ekspresi SMA ($p = 0,389 > 0,05$). Ekspresi *cyclin D1* pada karsinoma sel basal kelompok risiko rendah memiliki skor yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok risiko rekurensi tinggi. Sementara pada SMA tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Kesimpulan penelitian ini, ekspresi *cyclin D1* memiliki hubungan dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah dan tinggi, sedangkan SMA tidak berhubungan.

Kata kunci: *cyclin D1*, karsinoma sel basal, kelompok risiko rekurensi, *smooth muscle actin* (SMA)

CORRELATION BETWEEN *CYCLIN D1* AND *SMOOTH MUSCLE ACTIN* EXPRESSIONS WITH LOW AND HIGH RECURRENCE RISK GROUPS OF BASAL CELL CARCINOMA

Abstract

Skin cancers are categorized into melanocytic and non-melanocytic types. The number of non-melanocytic skin cancer cases was ranked as the fifth highest of all types of cancer around the world with basal cell carcinoma being the most common. Histopathologically, basal cell carcinoma is divided into two recurrence groups, i.e. low and high recurrence risk groups. The proliferative and invasive nature of basal cell carcinoma requires markers that can predict both risks, including *cyclin D1* and *smooth muscle actin* (SMA). This study aimed to approve the relationship between *cyclin D1* and SMA expressions in low and high recurrence risk groups of basal cell carcinoma. This study was analytic observational with a cross-sectional design. A total of 30 paraffin tissue embedded basal cell carcinoma from low-recurrence-risk ($n = 15$) and high-recurrence-risk categories ($n = 15$) were evaluated semi-quantitatively for the expression of *cyclin D1* and SMA by immunocytochemistry method. The relationship was analyzed with chi-squared statistic. This study revealed the relationship between the expression of *cyclin D1* with low and high recurrence risk groups of basal cell carcinoma ($p = 0.008 < 0.05$), The expression of SMA was not related to recurrence risk ($p = 0.389 > 0.05$). The expression of *cyclin D1* in the low recurrence risk group of basal cell carcinoma has a lower score than the high recurrence risk group. The expression of SMA was no statistical difference between groups. To conclude, there is a relationship between the expressions of *cyclin D1* and the low and high recurrence risk groups of basal cell carcinoma, but not for the expression of SMA.

Keywords: basal cell carcinoma, *cyclin D1*, recurrence risk groups, *smooth muscle actin*

¹Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya–RSUD Dr. Saiful Anwar Malang

²Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat-Kedokteran Pencegahan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya–RSUD Dr. Saiful Anwar Malang

³Departemen Bedah Onkologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya–RSUD Dr. Saiful Anwar Malang

✉ E-mail: berliananggraeniputri@gmail.com

Pendahuluan

Kanker kulit di Indonesia termasuk salah satu dari lima besar keganasan yang tersering didiagnosa. Kanker kulit menempati urutan kelima setelah kanker payudara, leher rahim, rektum, dan nasofaring, yang secara umum dibagi menjadi kanker kulit melanositik dan nonmelanositik dengan problematika yang berbeda.¹ Kanker kulit melanositik cenderung memiliki tingkat mortalitas yang tinggi apabila tidak didiagnosa secara dini. Sementara, kanker kulit nonmelanositik, yang merupakan jenis yang paling banyak, adalah karsinoma sel basal memiliki sifat yang mudah melakukan invasi dan mudah rekurensi apabila tidak diterapi secara adekuat, walaupun angka metastasisnya rendah. Sebaliknya, kanker kulit nonmelanositik lain yaitu karsinoma sel skuamosa cenderung lebih mudah untuk metastasis.^{2,3}

Karsinoma sel basal adalah karsinoma yang berasal dari sel basal interfolikular epidermis dan atau folikel rambut.⁴ Karsinoma sel basal memiliki berbagai macam pola morfologi, namun secara umum terdiri dari pulau-pulau maupun sarang-sarang sel tumor dengan gambaran sel yang memiliki inti hiperkromatik dengan sitoplasma cukup yang membentuk struktur seperti pagar (*palisading*) pada tepinya yang seringkali mengenai pasien dengan paparan sinar ultra violet B (UVB) intermiten pada usia tua. Namun pada usia yang lebih muda kejadian karsinoma sel basal seringkali dikaitkan dengan kelainan genetik seperti *xeroderma pigmentosum*, sindroma nevus basaloid, dan sindroma bazex.^{4,5} Paparan UVB dalam kurun waktu lama serta beberapa faktor genetika menyebabkan adanya mutasi pada gen *PTCH1*, sehingga menimbulkan hipersekresi *cyclin D1* yang berperan dalam siklus sel sebagai proto onkogen. Hal ini akan menyebabkan proliferasi sel yang sulit dihentikan sehingga terjadilah proses

karsinogenesis dari karsinoma sel basal.^{2,5} Di samping itu, karsinoma sel basal yang memiliki sifat mudah terjadi rekurensi serta invasi ke jaringan sekitarnya, membutuhkan protein *actin* atau disebut juga dengan *smooth muscle actin* (SMA) untuk menginduksi motilitas sel tumor ke jaringan sekitarnya.^{6,7,8}

Berdasarkan gambaran histopatologi serta kaitannya dengan risiko rekurensi, WHO tahun 2018 mengklasifikasikan karsinoma sel basal menjadi 2 kelompok, yaitu karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah yang terdiri dari subtipe nodular, *superficial*, *pigmented*, *infundibulokistik*, dan *fibroepitelial*. Lalu, karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi tinggi yang terdiri dari subtipe basoskuamosa, *sclerosing*, *infiltrating*, karsinoma sel basal dengan diferensiasi *sarcomatoid*, dan mikronodular. Keduanya memiliki gambaran histopatologi dan risiko rekurensi yang berbeda.⁴ *Cyclin D1* sebagai marker proliferasi diharapkan memiliki ekspresi yang lebih tinggi pada karsinoma sel basal kelompok risiko tinggi, sejalan dengan SMA sebagai protein yang menginduksi motilitas sel tumor diharapkan pula memiliki ekspresi yang lebih tinggi pada karsinoma sel basal kelompok risiko tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi *cyclin D1* dan SMA dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah dan tinggi, sehingga dapat menjadi faktor prediksi tingkat agresifitas dan risiko rekurensi karsinoma sel basal di masa mendatang.

Bahan dan Metode

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah blok parafin jaringan dari kasus karsinoma sel basal di Instalasi Patologi Anatomi RSUD dr. Saiful Anwar Malang sebanyak 30 sampel yang didapatkan mulai tahun 2018 hingga 2020.

Teknik pengambilan sampel secara *purposive sampling* dengan cara pengambilan *minimal sampling* yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sediaan blok parafin dari kasus yang telah didiagnosis histopatologi karsinoma sel basal di Instalasi Patologi Anatomi RSUD dr Saiful Anwar Malang sejak tahun 2018 hingga 2020 dengan data rekam medis yang lengkap. Apabila didapatkan blok parafin yang telah rusak, hasil pengecatan kurang baik, serta blok parafin yang hanya tersisa sedikit jaringan akan dikeluarkan dari penelitian ini. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Saiful Anwar Malang dengan nomor: 400/020/K.3/302/2021.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain observasional analitik dengan metode *cross-sectional*. Diagnosis ditetapkan dengan cara tinjauan ulang pada sampel karsinoma sel basal hingga sub tipe histopatologinya, kemudian dikelompokkan menjadi dua yaitu kelompok karsinoma sel basal rekurensi rendah yang terdiri dari sub tipe *nodular*, *superficial*, *pigmented*, *infundibulokistik*, dan *fibroepitelial*, serta karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi tinggi yang terdiri dari sub tipe *basoskuamosa*, *sclerosing*, *infiltrating*, karsinoma sel basal dengan diferensiasi *sarcomatoid*, dan *mikronodular*.

Selanjutnya dilakukan pemotongan ulang pada parafin blok dan dilakukan pengecatan dengan hematoxilin eosin serta imunohistokimia dengan antibodi *cyclin D1* menggunakan *rabbit monoclonal antibody (IgG) anti-human receptor* dan antibody SMA dengan teknik pewarnaan sesuai dengan prosedur *staining kit*.^{9,10} Hasil pengecatan menunjukkan ekspresi positif *cyclin D1* pada inti sel tumor yang terpulus berwarna coklat, sedangkan ekspresi SMA positif akan terpulus berwarna coklat pada membran dan

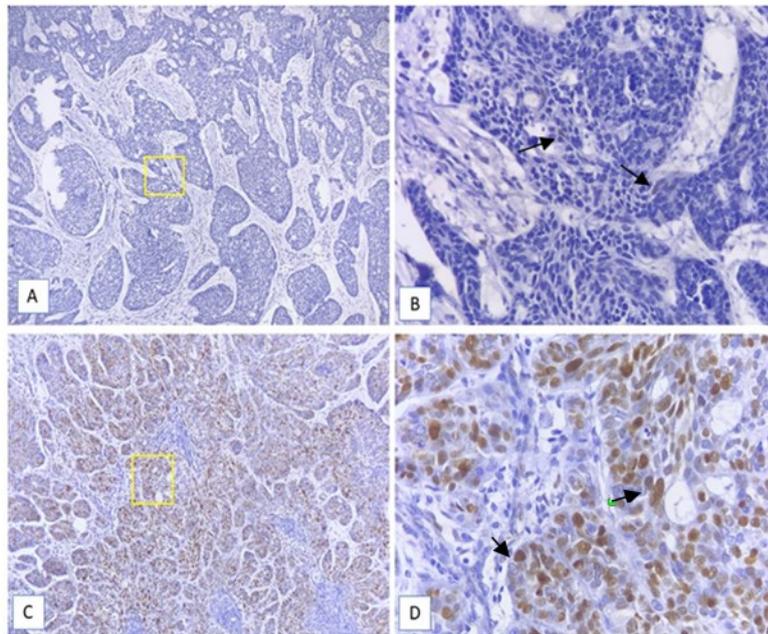
sitoplasma sel tumor. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler yang dibaca oleh 2 ahli patologi dan 1 peneliti. Penghitungan dilakukan pada 200 sel dari 5 lapang pandang besar lensa objektif (40x) secara acak. Kemudian dilakukan penilaian secara semi kuantitatif pada masing-masing sampel dengan kriteria persentase positif pada *cyclin D1* dibagi menjadi tiga skor, yaitu: 0 (0-1%), 1 (1-10%), 2 (10-50%), dan 3 (50-100%). Pada SMA dibagi menjadi 4 skor, yaitu: 0 apabila tidak didapatkan ekspresi positif pada seluruh lapang pandang, 1 (0-25%), 2 (25-50%), 3 (50-75%), 4 (75-100%).^{11,12}

Pada variabel ekspresi *cyclin D1* dan SMA sebelum dilakukan analisis parametrik dilakukan uji normalitas (untuk mengetahui sebaran data normal atau tidak) dengan menggunakan Shapiro-Wilk karena jumlah sampel <50, kemudian hubungan antara skoring *cyclin D1* dan SMA dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah dan tinggi dianalisa menggunakan uji chi square.

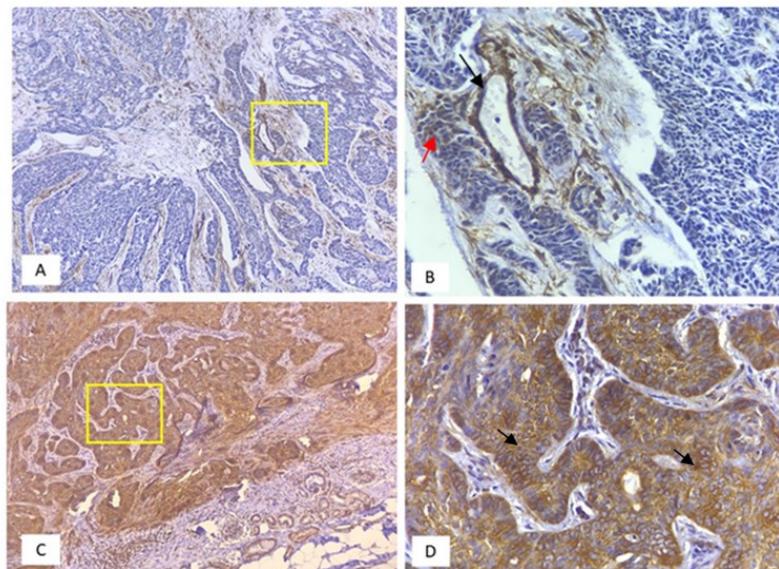
Hasil

Tiga puluh sampel karsinoma sel basal yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan risiko rekurensi, yaitu kelompok risiko rendah sejumlah 15 sampel dan kelompok risiko tinggi sejumlah 15 sampel. Dari kedua kelompok tersebut masing-masing dilakukan pengecatan imunohistokimia menggunakan antibodi *cyclin D1* (Gambar 1) dan SMA (Gambar 2).

Kemudian dilakukan penilaian semi kuantitatif berdasarkan skoring yang telah ditetapkan.^{6,11,12} Hasil penilaian menunjukkan ekspresi *cyclin D1* pada karsinoma sel basal kelompok risiko rendah yang terbanyak adalah skor 1 dengan jumlah 9 kasus (60%), dan pada kelompok risiko tinggi terbanyak dengan skor 2 dengan jumlah 13 (86,7%).



Gambar 1. Ekspresi *cyclin D1* pada karsinoma sel basal dengan metode imunohistokimia
Keterangan: A. Gambaran imunohistokimia *cyclin D1* pada karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah tampak seluruh area berwarna biru (40x), B. Perbesaran 400x area kotak kuning dari gambar A tampak ekspresi *cyclin D1* terpulas coklat pada kurang dari 3 sel tumor dengan intensitas lemah (panah hitam), C. Ekspresi *cyclin D1* pada kelompok risiko rekurensi tinggi tampak pulasan *cyclin D1* berwarna coklat (40x), D. Perbesaran 400x dari area kotak kuning pada gambar C, tampak sebagian besar sel tumor terpulas coklat dengan pewarnaan *cylin D1* (panah hitam)



Gambar 2. Ekspresi SMA pada karsinoma sel basal dengan metode imunohistokimia
Keterangan: A. Ekspresi SMA tampak tidak terpulas coklat pada karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi rendah (40x), B. Pada area kotak kuning (A) tampak ekspresi SMA terpulas coklat pada kontrol internal yaitu dinding pembuluh darah (panah hitam) dan hanya sedikit sel tumor terpulas coklat dengan intensitas lemah (panah merah) (400x). C. Pada karsinoma sel basal kelompok risiko rekurensi tinggi ekspresi SMA terpulas berwarna coklat tampak dominan pada kelompok sel tumor (40x), D. Tampak dari area kotak kuning (C) sebagian besar sel tumor terpulas coklat pada membran dan sitoplasma (400x)

Pada kelompok risiko rendah tidak didapatkan skor 3, sedangkan pada kelompok risiko tinggi didapatkan skor 3 dengan jumlah 2 sampel (13,3%). Hasil penilaian ekspresi SMA pada karsinoma sel basal kelompok risiko rendah terbanyak adalah skor 3 dengan jumlah 6 sampel (40%), dan pada kelompok risiko tinggi terbanyak adalah skor 4 (40%). Pada kedua kelompok risiko memiliki

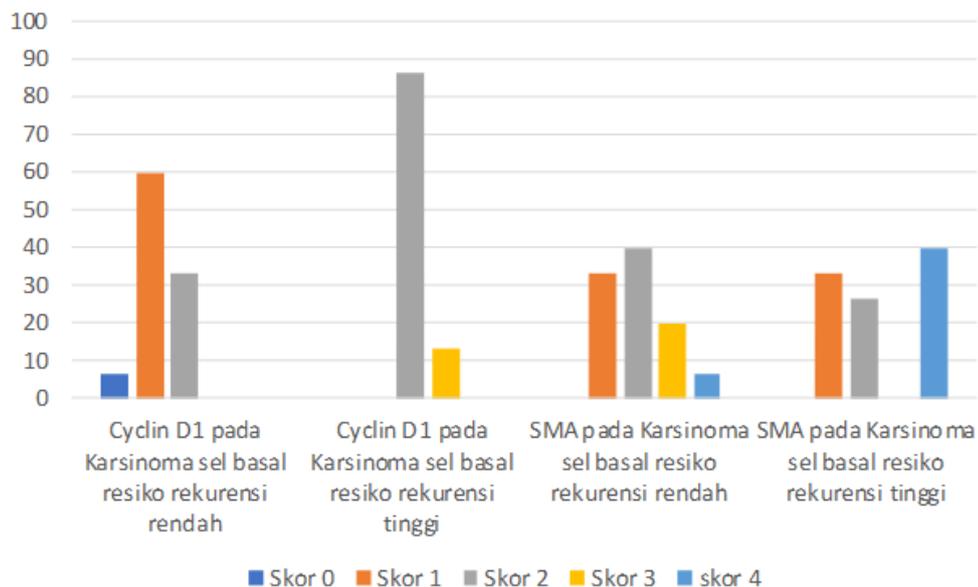
jumlah yang sama pada skor 2 yaitu sejumlah 5 sampel (33,3%) (Tabel 1).

Pada penelitian ini didapatkan hubungan signifikan antara ekspresi *cyclin D1* dengan kedua kelompok risiko rekurensi karsinoma sel basal ($p = 0,008$; $p < 0,05$), sedangkan ekspresi SMA tidak berhubungan dengan kedua kelompok risiko rekurensi karsinoma sel basal ($p = 0,389$; $p > 0,05$) (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil skor *cyclin D1* dan SMA pada karsinoma sel basal kelompok risiko rendah dan tinggi

Skor	Risiko		p value	
	Rendah n(%)	Tinggi n(%)		
<i>Cyclin D1</i>	0	1(6,7)	0	0,008*
	1	9(60)	0	
	2	5(33,3)	13(86,7)	
	3	0	2(13,3)	
SMA	0	0	0	0,389
	1	5(33,3)	5(33,3)	
	2	6(40)	4(26,6)	
	3	3(20)	0	
	4	1(6,7)	6(40)	

Keterangan: * Signifikan $p < 0,05$



Gambar 3. Distribusi masing-masing kelompok risiko rekurensi karsinoma sel basal berdasarkan ekspresi *cyclin D1* dan SMA

Keterangan: Pada karsinoma sel basal risiko rekurensi rendah ekspresi *cyclin D1* terbanyak didapatkan dengan skor 1, sedangkan pada risiko tinggi lebih banyak didapatkan skor 2; Pada karsinoma sel basal risiko rendah ekspresi SMA skor 3 menempati jumlah terbanyak dan pada risiko rekurensi tinggi, yang paling banyak didapatkan adalah skor 4

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi *cyclin D1* pada karsinoma sel basal berhubungan dengan tinggi rendahnya risiko rekurensi, namun ekspresi SMA pada karsinoma sel basal tidak berhubungan dengan risiko rekurensi. *Cyclin D1* dinilai berperan dalam menentukan derajat agresifitas karsinoma sel basal berdasarkan pembagian kelompok risiko histopatologinya, sejalan dengan hasil penelitian oleh Liang (2000) dan Sivrikoz (2015) yang menyebutkan bahwa *cyclin D1* menunjukkan imunopositifitas yang lebih tinggi pada karsinoma sel basal yang lebih agresif.^{13,14} *Cyclin D1* merupakan hasil aktivasi dari jalur transduksi sinyal PTCH1 yang merupakan satu dari tiga jalur paling berperan dalam patogenesis karsinoma sel basal. Jalur ini bisa teraktivasi salah satunya bila terdapat mutasi dari gen PTCH1 dan SMO yang akan menyebabkan ekspresi berlebihan dari *cyclin D1*. Sejalan dengan peran pentingnya dalam siklus sel, khususnya pada regulasi transisi dari fase G1 ke S serta mengendalikan beberapa fungsi sebagai onkogen yaitu dengan meningkatkan beberapa proses selama transformasi sel ganas, meliputi pertumbuhan abnormal, angiogenesis dan resistensi terhadap apoptosis, maka ekspresi *cyclin D1* yang berlebihan akan menyebabkan proliferasi sel terjadi secara terus menerus. Hal ini yang menjadi dasar penggunaan *cyclin D1* sebagai marker proliferasi sel pada beberapa jenis karsinoma yang akan menandai bahwa semakin tinggi kadar *cyclin D1* pada inti sel maka semakin tinggi tingkat proliferasi sel tersebut.^{14,15}

Berbeda dengan gambaran *cyclin D1*, pada penelitian ini SMA dinilai tidak memiliki hubungan dengan kelompok risiko karsinoma sel basal. Hal ini bertentangan dengan penelitian Piloni (2009) yang menyebutkan bahwa SMA adalah marker yang potensial untuk menilai agresifitas karsinoma sel

basal.¹⁶ *Smooth Muscle Actin* (SMA) merupakan protein ubiquitin yang ditemukan pada seluruh sel tubuh manusia yang berperan dalam motilitas dan kontraksi sel termasuk pula pada sel karsinoma.¹⁴ Pada karsinoma sel basal, ekspresi SMA berkaitan pula dengan sifat invasi dan degradasi lingkungan ekstraselular di sekitar tumor dengan cara induksi sitokin yang akan membentuk kompleks actin dan myosin, sehingga terjadi reorganisasi sitoskeleton dan produksi stromyolisin-3 yang akan mendegradasi matriks stroma jaringan di sekitar sel tumor, sehingga terjadi invasi sel tumor ke jaringan sekitarnya. Dengan mengetahui ekspresi SMA pada sel karsinoma diharapkan dapat diprediksi tingkat agresifitas sel tumor berdasarkan sifat invasinya ke jaringan sekitar.^{11,14} Pada penelitian Dos-santos (2021) didapatkan korelasi yang signifikan antara ekspresi SMA dengan sub tipe histopatologi karsinoma sel basal.⁶ Namun pada penelitian lain disebutkan bahwa rendahnya imunopositifitas SMA bisa didapatkan pada tumor dengan risiko metastatik tinggi.¹⁷ Pada penelitian lain oleh Adeboyega *et al* (2010) disebutkan bahwa meskipun tidak didapatkan korelasi antara ekspresi SMA pada membran dan sitoplasma karsinoma sel basal dengan agresifitasnya, namun ekspresi SMA pada stroma di sekitar tumor dapat pula menjadi penanda agresifitas KSB.^{11,18}

Pada penelitian ini, ekspresi SMA hanya dinilai pada sel tumor, tanpa melihat ekspresinya pada stroma di sekitar tumor atau yang disebut juga dengan stroma peritumoral. Selain itu kemungkinan adanya gambaran histopatologi campuran belum dapat disingkirkan.^{19,20} Law *et al* (2003) menyebutkan bahwa didapatkan perbedaan ekspresi SMA pada sel tumor dan stroma peritumoral pada karsinoma sel basal sub tipe nodular dan nodular infiltratif. Pada sub tipe nodular infiltratif yang merupakan sub tipe dengan gambaran campuran memiliki sifat

yang lebih agresif dan menunjukkan ekspresi SMA yang jauh lebih kuat. Oleh karena itu, meskipun pada penelitian ini ekspresi SMA tidak berhubungan secara signifikan dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rendah dan tinggi, maka hasil yang berbeda bisa didapatkan apabila dilakukan penilaian ekspresi SMA pada sel tumor sekaligus pada stroma peritumoral.

Selain itu, adanya kemungkinan gambaran histopatologi campuran antara karsinoma sel basal risiko rendah dan tinggi dalam satu kasus yang sama seperti pada karsinoma sel basal subtipe nodular infiltratif juga belum dapat disingkirkan. Diagnosa secara detail perlu dilakukan apabila didapatkan kemungkinan dua subtipe dalam satu kasus sangat penting untuk dapat menilai perbedaan ekspresi SMA.^{19,21,22}

Penambahan marker lain yang dapat menilai invasi tumor pada karsinoma sel basal juga dapat dilakukan, seperti penggunaan marker yang berfungsi untuk degradasi membrana basalis yaitu laminin dan integrin, serta *matrix metalloproteinase-9* yang berfungsi sebagai faktor yang mendegradasi stroma peritumoral dapat menjadi pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.¹⁵

Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini didapatkan hubungan antara *cyclin D1* dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rendah dan tinggi. Pada kelompok risiko tinggi ekspresi *cyclin D1* lebih kuat dibandingkan pada kelompok risiko rendah. Namun, SMA tidak memiliki hubungan dengan karsinoma sel basal kelompok risiko rendah ataupun risiko tinggi.

Saran

Diperlukan penilaian SMA pada sel tumor dan stroma peritumoral untuk mengetahui derajat invasi karsinoma sel basal. Selain itu penambahan marker invasi tumor lainnya juga dapat dilakukan pada penelitian

selanjutnya. Sangat penting bagi patolog untuk mendiagnosa karsinoma sel basal hingga subtipe baik tunggal maupun campuran agar dapat menilai sifat tumor secara individual.

Daftar Pustaka

1. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Kanker di Indonesia Tahun 2014 Data Histopatologik. Jakarta: Yayasan Kanker Indonesia. 2018.
2. Leiter U, Keim U, Garbe C. Epidemiology of Skin Cancer Update 2019. In: *Sunlight, Vitamin D and Skin Cancer*. Springer. P. 123-142.
3. Berwick M, Garcia A. Solar UV Exposure and Mortality from Skin Tumours: an Update. In: *Sunlight, Vitamin D and Skin Cancer*. Springer. P.143-154.
4. Messina J, Epstein EH, Kossard S, McKenzie C, Patel RM, Patterson JW, Scolyer RA. Basal Cell Carcinoma. In: *World Health Organization Classification of Skin Tumours*. David E, Daniella M, Richard AS Rein W (Editors). Lyon: IARC Press. 2017. P. 26-35.
5. Elder DE, Elenitsas R, Rosenbach M, Murphy GF, Rubin A, Xu X. *Lever's Histopathology of the Skin*. Wolters Kluwer. 2015. P 2147-2182.
6. Dos-santos ACK, Lima D, Bakos RM, cartel AD, Bonamigo RR. Stromal Alpha Smooth Muscle Actin Positivity is Associated with High Risk Basal Cell Carcinoma. *Am J dermatopathol*. 2021. 2021 Dec 1;43(12):e137-e140. doi: 10.1097/DAD.0000000000002007.
7. KEGG. Basal Cell Carcinoma-Homo sapiens (human). (Online). 2022. Accessed from: www.kegg.jp/pathway/hsa05210.
8. Boeckmann L, Martens S, Emmert . Molecular Biology of Basal and Squamous Cell Carcinoma. In: *Sunlight, Vitamin D and Skin Cancer*. Springer Nature. 2020. P. 171-194.

9. Biocare Medical. Cyclin D1 Concentrated and Prediluted Rabbit Monoclonal Antibody. Catalog Number ACR 432 A,C. Pacheco: Biocare Medical. 2020.
10. Biocare Medical. Cyclin D1 Concentrated and Prediluted Rabbit Monoclonal Antibody Catalog Number CM 001 A,B,C. Pacheco: Biocare Medical. 2020.
11. Yass NS, Sarkis SA, Al Drobie BF, Majeed AH. Immunohistochemical Evaluation of Actin Expression in Basal Cell Carcinoma and Oral Squamous Cell Carcinoma. *Tikrit Journall for Dental Sciences*. 2015; 112-118.
12. Bartos V. Evaluation of Immunohistochemical Expressions of Cyclin D1 (Bcl-1) and Ki67 Antigen (MIB-1) in Cutaneous Basal Cell Carcinoma and Adjacent Epidermis. *IARJ Med Ser*. 2021; 2(2):10-15.
13. Sivrikoz ON, Kandiloglu G. The Effects of Cyclin D1 and BCL-2 Expression on Agressive Behavior in Basal Cell and Basosquamous Carcinoma. *Iranian Journal of Pathology*. 2015; 10(3):185-191.
14. Liang SB, Furihata M, Takeuchi T, Iwata J, Chen BK, Sonobe H, Ohtsuki Y. Overexpression of Cyclin D1 in Nonmelanocytic Skin Cancer. *Virchow Archiv*. 2000; 436:370-376.
15. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. 10th Edition. Elsevier. 2018. P. 190-237.
16. Pilloni LP, Bianco C, Manielli G, Senes P, Coni L, Atzori N, Atse G. Immunoreactivity for Alpha-Smooth Muscle Actin Characterizes a Potentially Aggressive Subgroup of Little Basal Cell Carcinomas. *European Journal of Histochemistry*. 2009; 53(2):113-116.
17. Uzquiano MC, Prieto VG, Nash JW, Ivan DS, Gong Y, Lazar AJF, Diwan AH. Metastatic Basal Cell Carcinoma Exhibits Reduced Actin Expression. *Modern Pathology*. 2008; 21:540-543.
18. Adegboyega PA, Rodriguez S, McLarty J. Stromal Expression of Actin is a Marker of Aggressiveness in Basal Cell Carcinoma. *Human Pathology*. 2010; 41:1128-1137.
19. Christian MM, Moy RL, Wagner RF, Yen-Moore A. 2005. A Correlation of Alpha-Smooth Muscle Actin and Invasion in Micronodular Basal Cell Carcinoma. *Dermatol Surg*. 2001; 27:441-445
20. Motegi SI, Yamada K, Ishikawa O. Twist1 in Tumor Cells and α -Smooth Muscla Actin in Stromal Cells are Possible Biomarkers for Metastatic Giant Basal Cell Carcinoma. *Journal of Dermatology*. 2013; 40(8):661-3. doi: 10.1111/1346-8138.12188.
21. Mercur R, Ciurea ME, Margaritescu C, Popescu SM, Crait MM, Coto OS, Voinescu DC. Expression of p53, D2-40 and α -Smooth Muscle Actin in Different Histological Subtypes of Facial Basal Cell Carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*. 2014; 55(2):263-272.
22. Law MA, Oliveri CV, Pacheco-Quinto X, Horenstein MG. Actin Expression in Purely Nodular versus Nodular Infiltrative Basal Cell Carcinoma. *Journal of Cutaneous Pathology*. 2003; 30(4):232-236. <https://doi.org/10.1046/j.0303-6987.2003.054.x>.