

## ABSTRACT

**Background:** Basal cell carcinoma (BCC) is the most common skin malignancy in the world. BCC has a low mortality rate but high morbidity and recurrence rate. A number of studies have shown that patients' prognosis and recurrency are influenced by tumor-infiltrating lymphocytes (TILs). One of the components of TILs is regulatory T cells (Tregs), a subpopulation of T lymphocytes. Tregs are capable of controlling the balance between the activation and tolerance of anti-tumor immunity involved in the development and progression of tumors. The difference in TILs and Tregs distribution among tumor areas has the potential to give further insight into the correlation between the two as well as their interactions with tumor cells.

**Aims:** This study aims to analyze the correlation between Tregs and TILs in BCC as well as to compare the proportion of Tregs and TILs between different tumor areas: the tumor center (TS), tumor periphery (TT), and normal adjacent tissue (N).

**Methods:** Paraffin blocks of BCC cases during the years 2016-2021 and their clinical data were collected from Dr. Sardjito Hospital, Yogyakarta. Immunohistochemical staining was performed to identify TILs (CD3+/FOXP3-) and Tregs (CD3+/FOXP3+). The correlation between Tregs and TILs, as well as the difference in Tregs proportion among TS, TT, and N were analyzed statistically using Spearman's test of correlation and One-way ANOVA.

**Result:** From 43 samples, significant correlations were observed between Tregs and TILs in TS ( $p < 0.001$ ), TT ( $p < 0.001$ ), and N ( $p < 0.001$ ). Tregs proportion and TILs were significantly correlated in TS ( $p = 0.007$ ), but not in TT ( $p = 0.720$ ) nor N ( $p = 0.730$ ). Significant differences among TS, TT dan N were found for Tregs ( $p = 0.013$ ), CD3 count ( $p = 0.034$ ), and TILs proportion ( $p = 0.001$ ), but not for Tregs proportion ( $p = 0.081$ ). No meaningful correlations were observed between patients' age with Tregs, CD3 count, Tregs proportion, as well as TILs among TS, TT, and N. Tregs in TS was significantly higher in men compared to women ( $p = 0.039$ ). A consequential difference ( $p = 0.008$ ) in TILs proportion within TS between men and women was observed. Tregs count in TS of the non-head-and-neck cases was considerably higher compared to head-and-neck cases ( $p = 0.041$ ).

**Conclusions:** Significant positive correlations were observed between Tregs and stromal TILs. Tregs and TILs has no significant correlation with patient age. Tregs and TILs proportion in TS is significantly higher in men than women. Tregs count in TS was higher in non-head-and-neck cases compared to head-and-neck cases with a statistically meaningful difference.

**Keywords:** Basal cell carcinoma, tumor-infiltrating lymphocytes, regulatory T cells

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Karsinoma sel basal (KSB) adalah keganasan kulit yang paling umum ditemui di seluruh dunia. KSB memiliki mortalitas yang rendah namun morbiditas dan angka kekambuhan yang tinggi. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa prognosis dan kekambuhan pasien dipengaruhi oleh tumor-infiltrating lymphocytes (TILs). Salah satu komponen dari TIL yaitu sel T regulator (Tregs), yang merupakan subpopulasi limfosit T. Tregs dapat mengontrol keseimbangan antara aktivasi dan toleransi imun yang terlibat dalam perkembangan dan progresi tumor. Perbedaan distribusi TILs dan Treg pada area tumor yang berbeda dapat memberikan gambaran mengenai hubungan antara keduanya serta interaksinya dengan sel-sel tumor.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara Tregs dan TILs pada KSB serta membandingkan proporsi Treg dan TILs antara area tumor yang berbeda, yaitu tumor sentral (TS), tepi tumor (TT), dan kulit normal (N).

**Metode:** Sampel dari blok parafin kasus KSB tahun 2016-2021 beserta data klinis terkait diambil dari Rumah Sakit Dr. Sardjito Yogyakarta. Pengecatan imunohistokimia dilakukan untuk melakukan identifikasi TILs (CD3+/FOXP3-) dan Tregs (CD3+/FOXP3+). Korelasi antara Tregs dan TILs, serta perbedaan proporsi Tregs antara area TS, TT, dan N dianalisis secara statistik menggunakan uji korelasi Spearman dan metode One-way ANOVA.

**Hasil:** Dari 43 sampel, terdapat korelasi kuat antara Tregs dengan TILs pada area TS ( $p < 0,001$ ), TT ( $p < 0,001$ ), dan N ( $p < 0,001$ ). Korelasi proporsi Tregs dengan TILs signifikan ditemukan pada area TS ( $p = 0,007$ ), namun tidak pada daerah TT ( $p = 0,720$ ) dan N ( $p = 0,730$ ). Perbedaan yang signifikan antara area TS, TT dan N ditemukan untuk variabel Tregs ( $p = 0,013$ ), jumlah CD3 ( $p = 0,034$ ), dan proporsi TILs ( $p = 0,001$ ), namun tidak pada proporsi Tregs ( $p = 0,081$ ). Tidak ada hubungan bermakna antara umur dengan Tregs, CD3, proporsi Tregs, maupun TILs pada area TS, TT maupun N. Tregs pada area TS lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan perempuan dengan perbedaan yang signifikan ( $p = 0,039$ ). Ditemukan perbedaan bermakna ( $p = 0,008$ ) proporsi TILs pada area TS antara pasien laki-laki dan perempuan. Jumlah Tregs pada TS untuk kasus lokasi selain kepala dan leher lebih tinggi dibandingkan dengan kasus kepala dan leher dengan perbedaan yang signifikan ( $p = 0,041$ ).

**Kesimpulan:** Terdapat hubungan positif yang signifikan antara Tregs dengan TILs stromal. Tregs dan TILs tidak memiliki hubungan yang signifikan dengan umur pasien. Tregs dan TILs pada TS lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan perempuan secara signifikan. Jumlah Treg pada area TS lebih tinggi pada kasus selain kepala dan leher dibandingkan pada kasus kepala dan leher dengan perbedaan yang bermakna.

**Kata kunci:** karsinoma sel basal, tumor-infiltrating lymphocytes, sel T regulator