

بررسی میزان آئوزینوفیل در کارسینوم سلول سنگفرشی و رابطه آن با درجه بافت‌شناختی و متاستاز لنفاوی

دکتر مژگان علاءالدینی^۱ - دکتر دینا موسوی^۲ - دکتر نصرت اله عشقیار^۳ - دکتر شهرو اعتماد مقدم^۱

۱- استادیار مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- دندانپزشک

۳- دانشیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: ارتشاح آئوزینوفیلی از عوامل مؤثر بر تهاجم و متاستاز در برخی نئوپلاسم‌ها از جمله کارسینوم سلول سنگفرشی (SCC) عنوان شده است. هدف این مطالعه تعیین ارتباط حضور آئوزینوفیل‌ها در SCC دهان با و بدون متاستاز به گره‌های لنفاوی گردنی و درجه بافت‌شناختی تومور بود.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، از بین پرونده‌های موجود در بایگانی انستیتو سرطان بیمارستان امام خمینی، بیست نمونه SCC دارای متاستاز و بیست مورد بدون متاستاز به غدد لنفاوی گردن انتخاب گردید و با استفاده از لام‌های رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین/آئوزین، درجه‌بندی بافت‌شناختی و حضور آئوزینوفیل‌ها ارزیابی شد. در هر نمونه ده میدان متراکم و ده میدان کلاسیک شمارش و آئوزینوفیلیا بین درجات ۰ - ۴ گزارش گردید. جهت آنالیز آماری نتایج از آزمونهای Mann-Whitney-U و Kruskal-Wallis استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین نمونه‌ها در گروه دارای متاستاز و بدون متاستاز بر اساس درجه آئوزینوفیلیا در شمارش متراکم به ترتیب ۵۰٪ در درجه یک و ۷۰٪ در درجه دو و در شمارش کلاسیک ۵۰٪ در درجه یک و صفر و ۷۰٪ در درجه یک به دست آمد. اختلاف آماری معنی‌داری از نظر حضور آئوزینوفیل‌ها بین دو گروه با و بدون متاستاز، مشاهده نشد ($P > 0/05$). میانگین این سلول‌ها در درجات مختلف بافت‌شناختی در شمارش کلاسیک اختلافی را نشان نداد ($P = 0/029$)، ولی در شمارش متراکم اختلاف معنی‌دار به دست آمد ($P = 0/004$). نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد نقش آئوزینوفیل‌ها در ارتباط با متاستاز لنفاوی SCC ناچیز باشد. با عنایت به محدودیت‌های موجود در مطالعه حاضر، تحقیقاتی بیشتر در خصوص نقش سلول‌های مذکور در این ضایعه توصیه می‌شود.

کلید واژه‌ها: کارسینوم سلول سنگفرشی - آئوزینوفیل‌ها - متاستاز لنفاوی.

پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۴/۹

اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۲/۹

وصول مقاله: ۱۳۸۸/۹/۸

نویسنده مسئول: دکتر شهرو اعتماد مقدم، استادیار مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

e.mail:shahrooetamad@yahoo.com

مقدمه

شده‌اند. انتشار متاستاتیک OSCC به طور معمول از طریق عروق لنفاتیک به گره‌های لنفاوی گردنی رخ می‌دهد (۲) و متاستاز به غده‌های مذکور تأثیر عمده‌ای بر کاهش میزان بقا دارد. (۳)، گرچه در کارسینومای حفره دهان، متاستاز یک رویداد زود هنگام نیست، اما به دلیل تأخیر در مراجعه، تقریباً ۲۱٪ بیماران در هنگام تشخیص، متاستاز گردنی دارند. (۲)

نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته در کارسینوم دهانی،

کارسینوم سلول سنگفرشی (OSCC) Oral Squamous Cell Carcinoma یکی از شایع‌ترین بدخیمیهای حفره دهان است که حداقل ۹۲/۸٪ سرطانهای این ناحیه را شامل می‌شود. علی‌رغم به کارگیری روشهای درمانی و تشخیصی جدید در بیست سال گذشته، میزان مرگ و میر این تومور همچنان زیاد است. (۱)

بهترین شاخصهای پیش آگهی بیماران مبتلا به OSCC، اندازه تومور و وسعت انتشار متاستاتیک آن شناخته

۱۳۷۵-۱۳۸۴، موارد مربوط به بیماران مبتلا به OSCC استخراج گردید. تومورهای اولیه و فاقد متاستاز دور دست در هنگام تشخیص، نئوپلاسم‌هایی که به طور کامل خارج شده بودند و درجه بافت‌شناختی آنها مورد تأیید تشخیص میکروسکوپی دو نفر پاتولوژیست قرار گرفته بود، در نهایت وارد مطالعه شد.

لازم به ذکر است که کلیه اسلایدهای H&E موجود برای هر تومور از بایگانی انستیتو سرطان جدا شده و تحت بازبینی قرار گرفت. پس از تأیید تشخیص، درجه‌بندی بافت‌شناختی نئوپلاسم‌ها بر اساس معیارهای طبقه‌بندی Broder (۱۲)، توسط دو نفر پاتولوژیست به طور مجزا ارزیابی شد. اختلاف نظرهای احتمالی نیز با به کارگیری میکروسکوپ چندچشمی بررسی و در صورت عدم توافق، نمونه از مطالعه حذف می‌شد. ضایعات بر اساس طبقه‌بندی Broder به سه گروه با تمایز خوب، متوسط و ضعیف تقسیم شدند.

حضور آئوزینوفیل‌ها بر اساس روش ارائه شده در تحقیق Goldsmith و همکاران (۱۳) مورد بررسی قرار گرفت، بدین شیوه که برای هر نمونه بیست میدان میکروسکوپی با درشت‌نمایی بالا (High Power Field, HPF) ارزیابی شد که تعداد ده فیلد متراکم و ده فیلد کلاسیک بود. در شمارش متراکم، ده فیلد با حداکثر میزان آئوزینوفیل و در شمارش کلاسیک، ده فیلد به صورت تصادفی در هر نمونه شمارش شد. آشکار بودن آئوزینوفیلیا در ارتشاح التهابی طبق معیارهای زیر به درجات ۰ - ۴ تقسیم شد:

- (صفر) بیانگر عدم حضور تا دو آئوزینوفیل در هر HPF،
 - (۱+) نشان دهنده ۳ - ۱۰ آئوزینوفیل در هر HPF،
 - (۲+) نمایانگر ۱۱ - ۲۰ آئوزینوفیل در هر HPF،
 - (۳+) به معنای ۲۱ - ۳۰ آئوزینوفیل در هر HPF و
 - (۴+) بیانگر بیش‌تر از ۳۱ آئوزینوفیل در هر HPF بود.
- میانگین آئوزینوفیل‌ها در شمارشهای متراکم و کلاسیک به طور جداگانه در هر ده، HPF محاسبه شد، که ارزش درجه آئوزینوفیلیا را در یک نمونه نشان می‌داد.

جهت آنالیز نتایج به دست آمده، از آزمون Kruskal-Wallis استفاده گردید. همچنین برای مقایسه دوگانه گروه‌ها، آزمون Mann-Whitney-U به کار گرفته شد و Adjust مقادیر P-value با روش Bonferroni صورت پذیرفت، $P < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

عوامل بالینی مختلفی (محل، نوع ماکروسکوپی، گسترش، Stage تومور اولیه) و موارد آناتوموپاتولوژیک متعددی (درجه تمایز بافت‌شناختی، ضخامت، آمبولی عروقی، تهاجم اطراف اعصاب) را با ریسک متاستاز به لنف‌نودها مرتبط دانسته‌اند. (۴)، یکی از عوامل مورد مطالعه در ارتباط با احتمال متاستاز به گره‌های لنفاوی گردنی در OSCC، آئوزینوفیل‌ها بوده‌اند. (۵)

از سال ۱۸۴۶ مقالات بسیاری به توصیف آئوزینوفیلیای بافتی مرتبط با تومور یا Tumour Associated Tissue Eosinophilia (TATE) پرداخته‌اند. (۶) TATE با حضور آئوزینوفیل به عنوان جزئی از ارتشاح آماسی اطراف یا داخل تومور شناخته می‌شود. با آنکه آئوزینوفیلیای بافتی مرتبط با تومور یک پدیده شناخته شده است و تا کنون مطالعات متعددی در ارتباط با اثر آن بر عوامل پروگنوستیک انواع تومورها از جمله OSCC انجام شده، اما نتایج متفاوتی در مورد حضور آئوزینوفیل و رابطه آن با متاستاز گردنی SCC دهان ذکر گردیده است، (۷-۱۰) بدین ترتیب که در تعدادی از این تحقیقات، تفاوت آماری معنی‌داری بین حضور این سلول‌ها و موارد درگیری و عدم درگیری لنف‌نود مشاهده نشده، (۷-۸) در حالی که مطالعات دیگر بیانگر وجود ارتباط میان TATE و متاستاز به گره‌های لنفاوی گردنی بوده‌اند. (۹-۱۰) با توجه به عدم هماهنگی نتایج پژوهشهای مذکور، به نظر می‌رسد بتوان در این زمینه تحقیقات دیگری پایه‌ریزی کرد.

لازم به ذکر است بنابر تحقیق Lorena و همکاران، در SCC دهانی تفاوتی در تعداد آئوزینوفیل‌ها بر هر میلی متر مربع بین دو تکنیک رنگ آمیزی H&E و ایمونوهیستوشیمی مشاهده نشد. (۱۱)، با توجه به توضیحات فوق، هدف از انجام این مطالعه، بررسی حضور آئوزینوفیل‌ها در OSCC و تعیین ارتباط آن با درگیری متاستاتیک گره‌های لنفاوی گردنی و درجه بافت‌شناختی تومور توسط روش ساده و ارزان H&E بود.

روش بررسی

نوع مطالعه حاضر گذشته‌نگر و توصیفی-تحلیلی بود. از بین حدود چهل و دو هزار پرونده موجود در بایگانی انستیتو سرطان بیمارستان امام خمینی در بین سالهای

یافته‌ها

در مطالعه حاضر چهل مورد SCC دهانی مورد ارزیابی قرار گرفت که شامل بیست نمونه دارای درگیری متاستاتیک به گره‌های لنفاوی گردنی (+N) و بیست تومور بدون متاستاز به نواحی مذکور (-N) بود. درجه بافت‌شناختی ضایعات بر اساس تقسیم‌بندی Broder صورت پذیرفت، بدین شیوه، نمونه‌ها به سه گروه دسته‌بندی شدند که پنج نمونه در گروه تمایز خوب، ۲۷ مورد در گروه تمایز متوسط و هشت نمونه در گروه تمایز ضعیف قرار گرفتند.

شمارش میزان حضور ائوزینوفیل‌ها به دو صورت انجام پذیرفت: روش متراکم و کلاسیک. میانگین حضور ائوزینوفیل‌ها به پنج درجه تقسیم شد که اطلاعات آن در جدول ۱ قید گردیده است. (اشکال ۱ و ۲)

برای مقایسه میزان حضور ائوزینوفیل‌های شمارش شده به روش کلاسیک در ضایعات دارای درگیری متاستاتیک به گره‌های لنفاوی گردنی و نمونه‌های فاقد متاستاز از تست آماری Mann-Whitney-U استفاده شد که تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده نشد. ($P=0/082$)

برای مقایسه میزان حضور ائوزینوفیل‌های شمارش شده به روش متراکم در دو گروه +N و -N نیز از آزمون آماری

Mann-Whitney-U استفاده شد که باز هم تفاوت آماری معنی‌داری در این گروه‌ها مشاهده نشد. ($P=0/384$)
میانگین حضور ائوزینوفیل‌ها در سه درجه مختلف بافت‌شناختی SCC دهانی در جداول ۲ و ۳ عنوان شده است. برای مقایسه میزان حضور ائوزینوفیل‌های شمارش شده به روش کلاسیک در درجات مختلف بافت‌شناختی SCC دهانی از آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد که تفاوت آماری معنی‌داری بین درجات مختلف این تومور دیده نشد ($P=0/229$)، همچنین جهت انجام همین مقایسه برای روش متراکم نیز آزمون Kruskal-Wallis به کار رفت ولی این بار تفاوت آماری معنی‌داری بین درجات مختلف SCC دیده شد. ($P=0/004$)

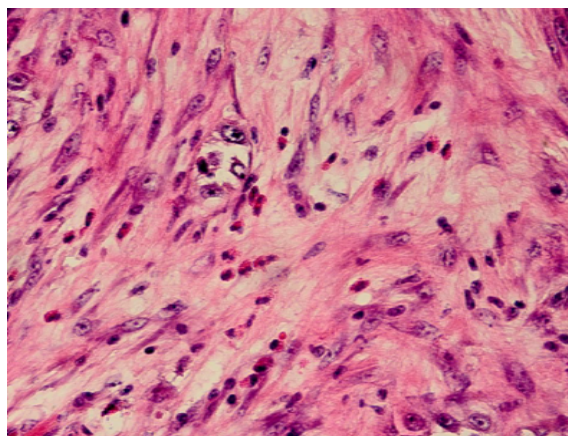
برای مقایسه دوگانه درجات بافت‌شناختی نیز از روش Mann-Whitney استفاده گردید که بر اساس Adjust مقادیر P.V توسط روش Bonferroni گروه تمایز متوسط تنها با گروه تمایز ضعیف اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد. ($P=0/04$)

بین گروه‌های تمایز خوب با متوسط ($P=2/12$) و همچنین خوب با ضعیف ($P=0/57$) نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

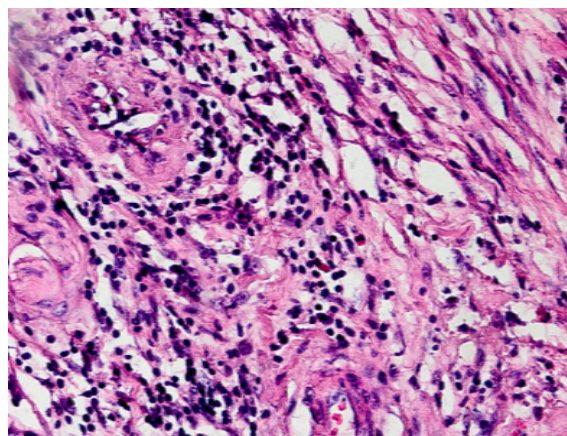
جدول ۱: میزان فراوانی ائوزینوفیل‌ها در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان

درجه ائوزینوفیلیا	نمونه‌ها				چهار
	تعداد نمونه (درصد)	تعداد نمونه (درصد)	تعداد نمونه (درصد)	تعداد نمونه (درصد)	
دارای متاستاز [#]	۰ (۰)	۱۰ (۵۰)	۹ (۴۵)	۱ (۵)	۰ (۰)
(شمارش متراکم)					
بدون متاستاز*	۱ (۵)	۵ (۲۵)	۱۴ (۷۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
(شمارش متراکم)					
دارای متاستاز	۱۰ (۵۰)	۱۰ (۵۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
(شمارش کلاسیک)					
بدون متاستاز	۵ (۲۵)	۱۴ (۷۰)	۱ (۵)	۰ (۰)	۰ (۰)
(شمارش کلاسیک)					

* متاستاز به غدد لنفاوی گردن
عدم متاستاز به غدد لنفاوی گردن



شکل ۲: نمای بافت شناختی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین)، آئوزینوفیلیای درجه سه با بزرگنمایی $\times 400$



شکل ۱: نمای بافت شناختی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین)، آئوزینوفیلیای درجه یک با بزرگنمایی $\times 200$

جدول ۲: میزان فراوانی ائوزینوفیل‌ها در گروه‌های بافت‌شناختی OSCC در شمارش کلاسیک

گروه بافت شناختی	تمایز خوب	تمایز متوسط	تمایز ضعیف
	تعداد نمونه	تعداد نمونه	تعداد نمونه
درجه ائوزینوفیلیا			
صفر	۲	۸	۵
یک	۳	۱۸	۳
دو	۰	۱	۰

جدول ۳: میزان فراوانی ائوزینوفیل‌ها در گروه‌های بافت‌شناختی OSCC در شمارش متراکم

گروه بافت شناختی	تمایز خوب	تمایز متوسط	تمایز ضعیف
	تعداد نمونه	تعداد نمونه	تعداد نمونه
درجه ائوزینوفیلیا			
صفر	۰	۰	۱
یک	۴	۶	۵
دو	۱	۲۰	۲
سه	۰	۱	۰

بحث

در مطالعه حاضر حضور ائوزینوفیل‌ها و ارتباط آنها با متاستاز به گره‌های لنفاوی گردنی و درجه بافت‌شناختی OSCC بررسی شد. بر اساس نتایج این مطالعه هیچ ارتباط آماری معنی‌داری بین حضور سلول‌های ائوزینوفیل در

حفره دهان یکی از شایع‌ترین مناطق درگیری SCC در ناحیه سر و گردن بوده (۵) و به دلیل شیوع بالای این بدخیمی مطالعات زیادی در ارتباط با بررسی عوامل مؤثر بر پیش‌آگهی آن صورت گرفته است.

در دو مطالعه (۱۳-۱۴) برای شمارش از روش کلاسیک استفاده شده بود که موافق نتایج مطالعه حاضر بود. از طرفی مشاهده اختلاف در شمارش متراکم بین درجات بافت‌شناختی و حضور ائوزینوفیل در این تحقیق مغایر با نتایج Alkhabuli (۸) بود که در مطالعه خود از روش متراکم بهره جسته است.

با آنکه به کرات در پژوهشهای مختلف از حضور ائوزینوفیل‌ها در SCC یاد شده، اما نکته جالب توجه این جاست که نقش این سلول‌ها در این بدخیمی هنوز به صورت یک راز باقی مانده است. این حقیقت که ائوزینوفیل ممکن است یک سلول با عملکرد چند جانبه در بافت تومورال باشد امروزه بیشتر مطرح می‌گردد، به گونه‌ای که این سلول از یک طرف مرتبط با آسیب بافتی است و از طرف دیگر در روند ترمیم زخم اثرگذار می‌باشد. بر این اساس ایده فوق در رابطه با TATE و نحوه عملکرد آن در تومورهای بدخیم نیز تقویت می‌شود. (۱۵)

ائوزینوفیل‌ها با مکانیسم‌های بسیاری، نقش حفاظتی خود را در مقابل پیشرفت تومور ایفا می‌کنند. این مکانیسم‌ها می‌توانند از توانایی این سلول‌ها در ایفای نقش سیتوتوکسیسیته وابسته به آنتی بادی (۹) تا قابلیت آنها در تولید و آزاد کردن پروتئین‌هایی نظیر Major basic protein و Eosinophil cationic protein و Eosinophil peroxidase متفاوت باشند. (۹ و ۱۵)

از طرف دیگر برخی محققان با توجه به مشاهدات خود پیشنهاد کردند که ائوزینوفیل‌ها از طریق آزاد کردن گرانول‌هایشان می‌توانند در ریمودلینگ بافتی به خصوص در انحطاط فیبرهای ماهیچه‌ای آسیب دیده از تهاجم سلول‌های بدخیم شرکت نمایند. (۱۵)، این نکته نیز حائز اهمیت است که ائوزینوفیل‌ها، آنژیوژنز تومورال را به وسیله تولیدات شناخته شده عوامل آنژیوژنیک متعدد تحریک می‌نمایند. همچنین این سلول‌ها دارای پیش‌ساز Matrix metalloproteinase مانند MMP-9 و MMP-2 هستند که دلالت بر توانایی آنها در تنظیم و تشکیل ماتریکس خارج سلولی به وسیله آنزیم‌هایشان دارد. (۱۵)، باتوجه به نقش ائوزینوفیل‌ها در آنژیوژنز و ماتریکس خارج سلولی شاید به نوعی این سلول‌ها در تهاجم و پیشرفت تومور نیز اثرگذار باشند.

تومور و درگیری متاستاتیک گردنی مشاهده نشد. تعدادی از محققان نیز در مطالعات خود در این باب، به نتایج مشابهی رسیدند. (۷-۸، ۱۴) در مقابل شمار دیگری، یافته‌های مخالف مطالعه حاضر گزارش کردند و در تحقیقات خود ارتباط آماری معنی‌داری میان حضور TATE و متاستاز به گره‌های لنفاوی گردنی مشاهده کردند. (۹-۱۰، ۱۵) دلایل مختلفی می‌تواند در عدم دسترسی به نتایج یکسان مطالعات اثرگذار باشد. یکی از این موارد، نبود توافق عمومی در طبقه‌بندی TATE است. این نکته حائز اهمیت می‌باشد که محققان از درجه‌بندیهای متفاوتی برای شمارش این سلول در مطالعات خود بهره جسته‌اند. Alkhabuli و High نیز بیان کردند که شمارش ائوزینوفیل‌ها و به تبع آن ارزیابی سلول‌های مذکور در بافتها، امری دشوار بوده و کاربرد هیچ روشی به تنهایی در این زمینه قابل اعتماد نیست. همچنین این محققان شمارش ائوزینوفیل‌ها را در میدانهای با بیشترین تراکم حضور (روش متراکم) نسبت به شمارش کلاسیک (تصادفی) ارجح دانستند. (۱۶)

گرچه در مطالعه حاضر از هر دو روش متراکم و کلاسیک برای بررسی سلولی استفاده شد اما به خاطر تنوع زیاد در روشهای شمارش و درجه‌بندی میزان حضور ائوزینوفیل، احتمال دارد که عدم دسترسی به نتایج واحد، به علت استفاده از سیستم‌های متفاوت ارزیابی صورت پذیرفته باشد. همچنین تأثیر حجم نمونه و وجود تفاوت‌های ژنتیکی و جغرافیایی در مطالعات انجام شده را نمی‌توان نادیده گرفت. در بررسی اخیر ارتباط حضور ائوزینوفیل‌ها با درجه بافت‌شناختی تومور نیز بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده در شمارش کلاسیک اختلاف آماری معنی‌داری در بین گروههای بافت‌شناختی مشاهده نشد اما در شمارش متراکم این اختلاف رؤیت شد. لازم به ذکر است برخی از محققان شمارش متراکم را برای بررسی ائوزینوفیل‌ها دقیقتر دانسته‌اند. در مقایسه دو گروهی نیز حضور ائوزینوفیل‌ها تنها در درجه بافت‌شناختی متوسط با ضعیف اختلاف آماری معنی‌داری را نشان دادند. شاید عدم رؤیت اختلاف بین سایر گروهها به علت تعداد نمونه کم، در آنها بوده باشد. حائز اهمیت است که تعداد مطالعات صورت گرفته در این رابطه ناچیز می‌باشد. (۸، ۱۳-۱۴) در این تحقیقها، اختلافی بین حضور ائوزینوفیل‌ها در درجات مختلف بافت‌شناختی OSCC مشاهده نشد. لازم به ذکر است

نتیجه‌گیری

OSSC به عنوان یک مبحث مورد توجه ادامه داشته باشد تا در نهایت به پرسشهای مهمی در این مقوله پاسخ داده شود، آیا ائوزینوفیل‌ها قسمتی از مکانیسم بقای میزبان، علیه تومور هستند یا ارتشاح این سلول‌ها پیش‌برنده رشد نئوپلاسم توسط ریمودلینگ و تنظیم ایمنی ریزمحیط اطراف تومور است؟

بر اساس نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد نقش ائوزینوفیل‌ها در ارتباط با متاستاز لنفاوی SCC ناچیز باشد، اما از آن جایی که در رابطه با عملکرد این سلول‌ها در تومورهای بدخیم همچون OSCC هنوز اطلاعات کمی در دسترس می‌باشد، به نظر می‌رسد در آینده مطالعات در زمینه ارتشاح ائوزینوفیل‌ها در تومورهای توپر همچون

REFERENCES

1. Lo Muzio L, Santarelli A, Panzarella V, Campisi G, Carella M, Ciavarella D, et al. Oral squamous cell carcinoma and biological markers: An update on the molecules mainly involved in oral carcinogenesis. *Minerva Stomatol.* 2007 Jun;56(6):341-7.
2. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral & maxillofacial pathology*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2009, Chapter: 10.
3. Woolgar JA, Scott J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor of mouth. *Head Neck* 1995 Nov-Dec;17(6):463-72.
4. Kowalski LP, Bagietto R, Lara JR, Santos RL, Tagawa EK, Santos IR. Factors influencing contralateral lymph node metastasis from oral carcinoma. *Head Neck* 1999 Mar;21(2):104-10.
5. Martínez-Gimeno C, Rodríguez EM, Vila CN, Varela CL. Squamous cell carcinoma of the oral cavity: A clinicopathologic scoring system for evaluating risk of cervical lymph node metastasis. *Laryngoscope* 1995 Jul;105(7 Pt 1):728-33.
6. Lowe D, Jorizzo J, Hutt MS. Tumor-associated eosinophilia: A review. *J Clin Pathol.* 1981 Dec;34(12):1343-8.
7. Altemani AM, Guimarães P, Metze K, Queiroz LS. Quantitative analysis of modes of invasion and lymph node metastases in oral squamous cell carcinoma. *Neoplasma* 1999;46(5):323-8.
8. Alkhabuli JO. Significance of neo-angiogenesis and immuno-surveillance cells in squamous cell carcinoma of the tongue. *Libyan J Med.* 2007; 2(1):30-39.
9. Dorta RG, Landman G, Kowalski LP, Lauris JR, Latorre MR, Oliveira DT. Tumour-associated tissue eosinophilia as a prognostic factor in oral squamous cell carcinomas. *Histopathology* 2002 Aug;41(2):152-7.
10. Falconieri G, Luna MA, Pizzolitto S, DeMaglio G, Angione V, Rocco M. Eosinophil-rich squamous carcinoma of the oral cavity: A study of 13 cases and delineation of a possible new microscopic entity. *Ann Diagn Pathol.* 2008 Oct;12(5):322-7.
11. Lorena SC, Dorta RG, Landman G, Nonogaki S, Oliveira DT. Morphometric analysis of the tumor associated tissue eosinophilia in the oral squamous cell carcinoma using different staining techniques. *Histol Histopathol.* 2003 Jul;18(3):709-13.
12. Zain RB, Sakamoto F, Shrestha P, Mori M. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in oral squamous cell carcinoma - an aid to conventional histological grading? *Malays J Pathol.* 1995 Jun;17(1):23-30.

13. Goldsmith MM, Belchis DA, Cresson DH, Merritt WD, Askin FB. The importance of the eosinophil in head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992 Jan;106(1):27-33.
14. Tadbir AA, Ashraf MJ, Sardari Y. Prognostic significance of stromal eosinophilic infiltration in oral squamous cell carcinoma. *J Craniofac Surg.* 2009 Mar;20(2):287-9.
15. Tostes Oliveira D, Tjioe KC, Assao A, Sita Faustino SE, Lopes Carvalho A, Landman G et al. Tissue eosinophilia and its association with tumoral invasion of oral cancer. *Int J Surg Pathol.* 2009 Jun;17(3):244-9.
16. Alkhabuli JO, High AS. Significance of eosinophil counting in tumor associated tissue eosinophilia (TATE). *Oral Oncol.* 2006 Sep;42(8):849-50.