دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌ودوم–شماره ۱۱۵
اسفند ۱۳۹۳

بررسی تراکم ماست‌سل در کارسینوم سلول سنگ‌فرشی و مخاط دیسپلاستیک حنجره

نویسندگان: گیتا رضوانی[۱]، محمدرضا جلالی ندوشن[۲*]، فرزاد یزدانی بیوکی[۳]، محمدجواد خرازی[٤] و زهرا رضائی[٥]

۱. استادیار گروه آسیب‌شناسی فک و دهان، دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. استاد گروه آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. استادیار گروه پاتولوژی بیمارستان امیراعلم، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
٤. مشاور متدولوژی و آمار مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی، پژوهشکده علوم دندان‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
۵. دانشجوی دندان‌پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: محمدرضا جلالی ندوشن **E-mail: jalalinadooshan@yahoo.com**

دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۳۰
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۳/۱۱/۰۵
پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۱

چکیده

مقدمه و هدف: نقش ماست‌سل‌ها در روند کارسینوژنز بسیاری از انواع بدخیمی‌ها ثابت شده‌است ولی تاکنون مطالعه‌ای که به بررسی نقش این سلول در پاتوژنز پیشرفت ضایعات دیسپلاستیک حنجره به سمت کارسینوم مهاجم بپردازد، وجودنداشته‌است؛ لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی نقش ماست‌سل، به مقایسه تراکم ماست‌سل میان اسکواموس‌سل کارسینوما و مخاط دیسپلاستیک حنجره اقدام‌کرده‌است.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۰ بلوک پارافینه از اسکواموس‌سل کارسینوما، ۱۸ مورد مخاط دیسپلاستیک و ۱۸ مورد مخاط نرمال حنجره انتخاب و با استفاده از تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی‌شدند؛ پس از شمارش ماست‌سل‌ها در واحد سطح توسط دو مشاهده‌گر، میانگین تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح برای هر گروه تعیین و با استفاده از آزمون آماری ANOVA برای شمارش مطلق و آزمون آماری Kruskal-Wallis برای شمارش رتبه‌ای مقایسه‌شدند.

نتایج: در شمارش مطلق، میانگین تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح در SCC۹/۳۳±۱۱، در مخاط دیسپلاستیک۱۰/۱۱±۱۰/۶۷و در مخاط نرمال ۴/۶۸±۸ بود که تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده‌نشد (P=۰/۴۹۳)؛ در شمارش ماست‌سل‌ها به روش رتبه‌ای نیز، تفاوت آماری معنی‌داری میان سه گروه مورد بررسی مشاهده‌نشد (P=۰/۱۳۲).

نتیجه‌گیری: طبق نتایج حاصل از این مطالعه، مشارکت ماست‌سل‌ها در روند کارسینوژنز در ضایعات پیش‌بدخیم و تومور پیشرفته، چندان تفاوت‌نداشته؛ به‌عبارت‌دیگر، ماست‌سل‌ها فعالیت کارسینوژنز خود را از همان ابتدای پیش‌بدخیمی آغازمی‌کنند.

واژگان کلیدی: کارسینوم سلول سنگ‌فرشی، مخاط حنجره، مخاط دیسپلاستیک

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

اسکواموس‌سل کارسینوما (SCC)، دستگاه تنفس فوقانی، نوعی تومور اپی‌تلیالی با تمایز سلول‌های سنگ‌فرشی و شایع‌ترین نئوپلاسم بدخیم مخاط پوشاننده است و بیش از ۹۰ درصد سرطان‌های دستگاه تنفس فوقانی را شامل می‌شود (۱). اسکواموس دیسپلازی، نوعی ابنورمالیتی اپی‌تلیوم سنگ‌فرشی است که پیش‌زمینه کارسینوم مهاجم درنظرگرفته‌می‌شود و اغلب در ادامه روند پیشرفت تومور، کارسینوم مهاجم، روی آن سوارمی‌شود (۲).

ماست‌سل یا ماستوسیت از سلول‌های دفاعی سیستم ایمنی و مقیم بافت همبند است (۳) که از سلول‌های بنیادی مغز استخوان منشأگرفته، از طریق خون محیطی به بافت همبند واردمی‌شود (٤). ماست‌سل‌ها نقشی مهم در نئوواسکولاریزاسیون دارند؛ بنابراین در بیماری‌هایی متفاوت ازجمله «آرتریت روماتوئید، ترمیم زخم و واریس‌های وریدی اندام‌های پایین تنه» گزارش‌شده‌اند (۵)؛ همچنین در کارسینوژنز نیز از راه‌هایی نظیر ایمونوساپرس، افزایش آنژیوژنز، شکستن ماتریکس خارج‌سلولی و پیشبرد میتوز سلول‌های تومور و همچنین در ارجاع فنوتیپ آنژیوژنیک پیش‌بدخیمی و واسکولاریزاسیون طی کارسینوژنز اپی‌تلیوم سنگ‌فرشی همکاری‌می‌کنند (٦). *فلاین*[1] و همکاران، ارتباطی مستقیم را میان توالی ارتشاح و فعال‌شدن ماست‌سل‌ها با مراحل مختلف هیپرکراتوز، دیسپلازی، کارسینوم in-situ و SCC مهاجم حفره دهان، در شرایط in vivo نشان‌دادند (۷). با توجه به نقش اثبات‌شده ماست‌سل‌ها در کارسینوژنز، این پرسش، مطرح می‌شود که «آیا این سلول، در جریان پیشرفت ضایعات دیسپلاستیک حنجره به کارسینوم مهاجم نقشی‌دارد یا نه؟» که درصورت مثبت‌بودن، لازم است این دو ضایعه از حیث تعداد ماست‌سل، متفاوت باشند؛ لذا این مطالعه با هدف تعیین وجود یا عدم تفاوت تعداد ماست‌سل میان ضایعات پیش‌بدخیم و کارسینوم مهاجم حنجره طراحی‌شد؛ ازسوی‌دیگر درصورتی‌که ماست‌سل در روند ایجاد فنوتیپ بدخیمی در ضایعات پیش‌بدخیم حنجره، دخیل باشد، می‌تواند به‌عنوان نشانگری مفید در تشخیص افتراقی ضایعات دیسپلاستیک از کارسینوم مهاجم این ناحیه از بدن نیز کمک‌کننده باشد.

برای شناسایی ماست‌سل‌ها از روش‌هایی گوناگون می‌توان‌استفاده‌کرد که یکی از ارزان‌ترین، ساده‌ترین و سریع‌ترین روش‌ها، رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو است (٤)؛ در این روش، ماست‌سل‌ها به سبب وجود گرانول‌های حاوی مقادیر زیاد هیستامین و هپارین به‌صورت متاکروماتیک (رنگ میان آبی و قرمز)، رنگ می‌پذیرند (۸).

روش تحقیق

در مطالعه مقطعی حاضر، با مراجعه به بخش پاتولوژی بیمارستان امیر اعلم، تعداد ۲۰ بلوک پارافینه SCC حنجره و ۲۰ نمونه دیسپلازی حنجره با درجه بافت‌شناختی متوسط تا شدید و ۲۰ نمونه مخاط نرمال حنجره (مخاطی که حاوی ضایعه اپی‌تلیال نباشد) که دارای فیکساسیون مناسب و حجم بافتی مناسب بودند، از آرشیو سال ۱۳۹۱، انتخاب و برش‌های ٤ میکرونی از آنها تهیه و برای رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو، روی لام گسترانیده شدند؛ سپس برش‌ها با گزیلن، دپارافینه شده، در درجات مختلف الکل به‌مدت ۲ ساعت قرارداده و با آب شسته شدند؛ پس‌ازآن در رنگ تولوئیدین بلو (مرک آلمان) با غلظت ۲ گرم پودر در ۱۰۰ سی‌سی آب (PH=۲/۳) به‌مدت ۱ دقیقه قرارداده و سپس با آب شسته و با لامل، پوشانده شدند.

ماست‌سل‌های موجود در استرومای هر نمونه با استفاده از میکروسکوپ نوری OLYMPUS و بزرگ‌نمایی ٤۰۰× توسط دو مشاهده‌گر با دو روش مجزا، شمارش‌شدند:

۱. شمارش ماست‌سل‌ها توسط مشاهده‌گر اول به‌صورت رتبه‌ای و به‌ازای۱ HPF[2] برای هر گروه

[1] - Flynn

[2] - High Power Field

Archive of SID
www.SID.ir

صورت‌گرفت و نتایج شمارش سه گروه، با استفاده از آزمون Kruskal-Wallis مقایسه‌شدند.

۲. مشاهده‌گر دوم، تعداد ماست‌سل‌ها را در ده (۱۰) میدان میکروسکوپی تصادفی با بزرگ‌نمایی ٤٠٠× به‌صورت مطلق شمارش و نصف مجموع ده میدان را به‌عنوان تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح برای هر نمونه ثبت‌کرد؛ درنهایت، مقایسه سه گروه با استفاده از آزمون آماری ANOVA انجام‌شد.

یافته‌ها و نتایج

پس از حذف نمونه‌های شمارش‌نشدنی، نمونه‌ها شامل ۲۰ مورد اسکواموس‌سل کارسینوما حنجره (با میانگین سنی ٤٨/٣٨±٠/٧٨)، ۱۸ مورد دیسپلازی اپی‌تلیالی حنجره (با میانگین سنی ٦١ /١١±٥٦/٥٦) و ۱۸ مورد مخاط نرمال حنجره (با میانگین سنی ٥٦/٠٦±١١/٠٦) بودند.

همان‌طورکه از جدول ۱ برمی‌آید، با شمارش مطلق ماست‌سل‌ها در ۲۰ مورد SCC، حداقل تعداد ماست‌سل، ۳ عدد و حداکثر آن، ۳۹ عدد در واحد سطح و میانگین تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح ۹/۳۳±۱۱ بوده‌است و در ۱۸ مورد دیسپلازی، حداقل تعداد ماست‌سل، ۲ عدد و حداکثر آن، ۳۳ عدد در واحد سطح و میانگین تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح ۱۰/۱۱±۱۰/٦٧ بوده‌است و در ۱۸ مورد اپی‌تلیوم نرمال، حداقل تعداد ماست‌سل، ۲ عدد و حداکثر آن، ٢٤ عدد در واحد سطح و میانگین تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح ٤/٦٨±٨ بوده‌است.

جدول ۱. تراکم ماست‌سل‌ها در SCC، دیسپلازی و مخاط نرمال حنجره (شمارش مطلق)

ضایعه	تعداد	کمترین تعداد ماست‌سل	بیشترین تعداد ماست‌سل	میانگین	انحراف معیار
مخاط نرمال	۱۸	۳	۲۴	۸/۰۰	۴/۶۸
دیسپلازی	۱۸	۲	۳۳	۱۰/۶۷	۱۰/۱۱
SCC	۲۰	۳	۳۹	۱۱/۰۵	۹/۳۳

برای مقایسه شمارش مطلق ماست‌سل‌ها در سه گروه یادشده، آزمون one-way ANOVA استفاده‌شد که تفاوتی معنادار، میان سه گروهSCC، دیسپلازی و مخاط نرمال در تراکم ماست‌سل‌ها مشاهده‌نشد (P=٠/٤٩٣)(جدول۲).

جدول۲. تراکم ماست‌سل‌ها در SCC، دیسپلازی و مخاط نرمال حنجره (شمارش رتبه‌ای)

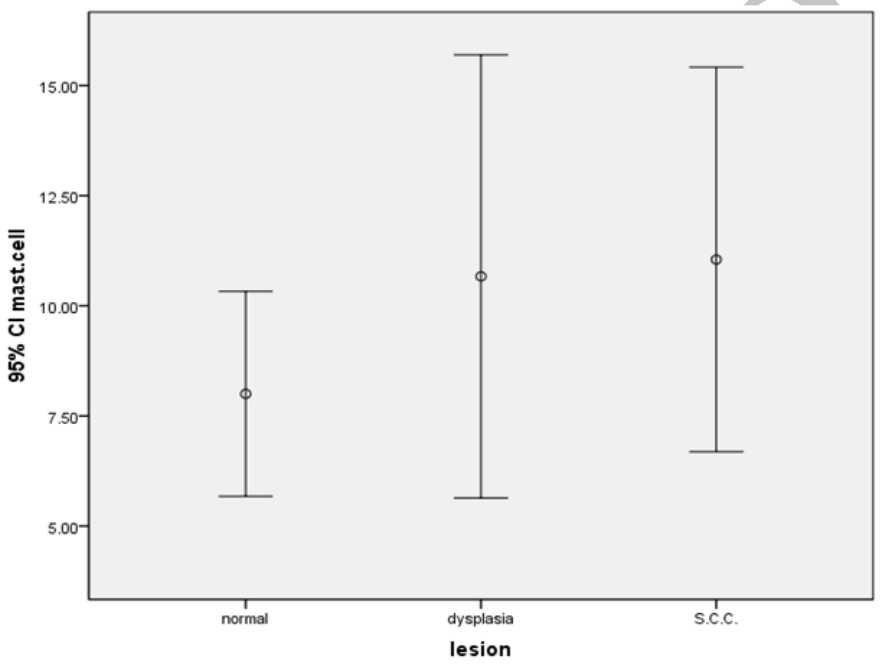
			تعداد ماست سل						کل
			۰/۰۰	۱/۰۰	۲/۰۰	۳/۰۰	۴/۰۰	۶/۰۰	
ضایعه	نرمال	شمارش	۱۷		۱	۰	۰	۰	۱۸
		٪ در ضایعه	٪۹۴/۴	٪۰/۰	٪۵/۶	٪۰/۰	٪۰/۰	٪۰/۰	٪۱۰۰/۰
	دیسپلازی	شمارش	۱۳	۱	۱	۲	۱	۰	۱۸
		٪ در ضایعه	٪۷۲/۲	٪۵/۶	٪۵/۶	٪۱۱/۰	٪۵/۶	٪۰/۰	٪۱۰۰/۰
	SCC	شمارش	۱۷	۱	۰	۱	۰	۱	۲۰
		٪ در ضایعه	٪۸۵/۰	٪۵/۰	٪۰/۰	٪۵/۰	٪۰/۰	٪۵/۰	٪۱۰۰/۰
کل		شمارش	۴۷	۲	۲	۳	۱	۱	۵۶
		٪ در ضایعه	٪۸۴/۰	٪۳/۵	٪۳/۵	٪۵/۴	٪۱/۸	٪۱/۸	٪۱۰۰/۰

Archive of SID

www.SID.ir

نمودار ۱ (error bar)، تعداد ماست‌سل‌ها را در واحد سطح با حدود اطمینان ۹۵ درصد و میانگین در سه گروه SCC، دیسپلازی و مخاط نرمال حنجره نشان‌می‌دهد؛ مشاهده‌گر دیگر، شمارش ماست‌سل‌ها را به‌صورت رتبه‌ای انجام‌داده‌است (جدول۲) که با آزمون آماری Kruskal-Wallis، تفاوتی معنادار از نظر تراکم ماست‌سل‌ها میان سه گروه SCC، دیسپلازی و مخاط نرمال حنجره مشاهده‌نشد (P=۰/۱۳۲).

همان‌طورکه گفته‌شد، نمونه‌ها با دو مشاهده‌گر و به دو روشِ شمارشِ متفاوت بررسی‌شدند که ۸٤ درصد (ضریب تکرارپذیری) توافق، میان مشاهده‌گرها وجودداشته‌است و در نه (۹) مورد از نمونه‌ها (میان دو مشاهده‌گر) در شمارش ماست‌سل‌ها، تفاوت وجودداشته‌است.



نمودار ۱. تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح با حدود اطمینان ۹۵ درصد میانگین در SCC، دیسپلازی و مخاط نرمال حنجره

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از شمارش ماست‌سل‌ها در مطالعه حاضر، تفاوتی معنی‌دار را میان سه گروه SCC، دیسپلازی و مخاط نرمال حنجره نشان‌ندادند.

در بسیاری از تومورها، ماست‌سل عملکردی دوگانه دارد؛ این سلول در ابتدا به‌عنوان سازوکاری دفاعی، وارد عمل شده، متعاقب آن به‌صورت عاملی (فاکتور) مشارکت‌کننده در روند کارسینوژنز، نقش ایفامی‌کند (۳). ماست‌سل‌ها با ترشح اینترلوکین۶،۱ و۸ و همچنین تحریک ترشح VEGF باعث تحریک و پیشبرد آنژیوژنز می‌شوند؛ بنابراین، با تحریک آنژیوژنز، هم خون‌رسانی برای تسریع رشد تومور را مهیامی‌سازند و هم زمینه را برای متاستاز و دست‌اندازی تومور به بافت‌های اطراف فراهم‌می‌کنند؛ ازطرف‌دیگر، این سلول‌ها با ترشح برخی عوامل رشد سبب رشد و تکثیر سلول‌های توموری می‌شوند (۲)؛ بنابراین، چنین انتظارمی‌رود که تراکم ماست‌سل در تومورهای پیشرفته، بیشتر از ضایعات پیش‌بدخیم باشد ولی مطالعه حاضر، تفاوتی معنی‌دار را از حیث تراکم ماست‌سل میان اسکواموس‌سل کارسینومای حنجره و ضایعات پیش‌بدخیم این ناحیه نشان‌نداد؛ در توجیه این امر شاید بتوان چنین فرض‌کرد

www.SID.ir

که به محض آغاز تغییرهای دیسپلاستیک در بافت، ماست‌سل‌ها فعالیت کارسینوژنز خود را آغازمی‌کنند که این امر به پیشرفت تومور از حالت پیش‌بدخیمی به بدخیمی منجرمی‌شود و پس از تغییر فنوتیپ ضایعه به سمت بدخیمی، به‌تدریج سازوکارهای مهارکننده سیستم دفاعی بدن، وارد عمل شده، حضور ماست‌سل‌ها را در بافت کنترل‌می‌کنند؛ این توجیه با یافته *بالیکا*[1] و همکارانش نیز (که در مطالعه خود، تراکم ماست‌سل‌ها را در مراحل ابتدایی تهاجم کارسینومای حنجره، بیشتر از مراحل پیشرفته تهاجم نشان‌دادند)، همخوانی‌دارد.

برخی مطالعات نیز ثابت‌کرده‌اند که ماست‌سل‌ها در القای فنوتیپ آنژیوژنیک در ضایعات پیش‌بدخیمی دخالت‌دارند و جزئی از عوامل دخیل در نئوواسکولاریزاسیون ضایعات پیش‌بدخیم هستند (۳)؛ این بدان معنی است که آغاز فعالیت کارسینوژنز ماست‌سل، زودتر از آنچه تصورمی‌شود، یعنی در همان مراحل ابتدای روند پیش‌بدخیمی و پیش از جریان (پروسه) تهاجم سلول‌های اپی‌تلیالی دیسپلاستیک به بافت همبند زیرین اتفاق‌می‌افتد؛ در این راستا، *اعتمادمقدم* و همکارانش نیز در مطالعه‌ای که روی درجات مختلف بافت‌شناختی SCC حفره دهان انجام‌دادند، نقش ماست‌سل‌ها را در مراحل اولیه SCC، پررنگ‌تر از درجات پیشرفته تهاجم و بدخیمی گزارش‌کردند (۹)؛ لذا حضور زیاد این سلول‌ها همراه با نمونه‌های دیسپلاستیک مطالعه حاضر، با این عملکرد آنها بی‌ارتباط نیست؛ بنابراین با فرض مطلوب‌بودن شرایط مطالعه، نتیجه به‌دست‌آمده از عدم تفاوت تراکم ماست‌سل‌ها در ضایعات دیسپلاستیک و حنجره حکایت‌می‌کند که خود، نشان‌دهنده آغاز اثرگذاری کارسینوژنیک ماست‌سل‌ها از مرحله پیش‌بدخیمی تومورهاست.

مطالعـاتی مشابه، روی نمونه‌های دهانی انجام‌شده‌اند که نتایجی شبـیه مطالعه حاضر داشته‌اند؛ از این دست می‌توان به مطالعه *جهانشاهی* و همکاران اشاره‌کرد که طبق نتایج آنان «گرچه تراکم عروق خونی در SCC دهانی با تراکم ماست‌سل ارتباط‌داشت، تعداد ماست‌سل‌ها در SCC دهانی و مخاط نرمال، تفاوتی معنی‌دار را نشان‌ندادند» (۱۰).

محتشم و همکارانش نیز، تفاوتی در تراکم ماست‌سل‌ها را در درجات مختلف SCC مشاهده‌نکردند؛ گرچه آنها برخلاف مطالعه حاضر، میان تعداد ماست‌سل‌ها در SCC و مخاط نرمال دهان، اختلافی معنی‌دار را گزارش‌کردند که در این خصوص، شاید بتوان تفاوت نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه را به محل تومور نسبت‌داد (۱۱).

برخی مطالعات، نتایجی مغایر با نتایج مطالعه حاضر داشتند؛ به‌طورنمونه می‌توان به مطالعه *ساواتسوباشی*[2] و همکارانش اشاره‌کرد که روی ٥٤ مورد SCC حنجره صورت‌گرفته‌بود و نتایج مطالعه ایشان ثابت‌کرد که هر ٥٤ مورد SCC حنجره، دارای ماست‌سل‌های VEGF مثبت بودند درحالی‌که از سلول‌های تومورال، فقط ۱۳ مورد VEGF مثبت بودند؛ ازآنجاکه عامل VEGF در رگ‌سازی تومور دخالت‌دارد، می‌توان چنین نتیجه‌گرفت که ماست‌سل‌ها بیشتر از خود سلول‌های توموری در رگ‌سازی و متعاقب آن، پیشرفت تومور دخیل‌اند و این در حالی است که تراکم عروق خونی در نمونه‌های SCC حنجره، به‌طور معنی‌داری بیشتر از مخاط نرمال حنجره بوده‌است (۵).

لامارون[3] و همکارانش در تحقیقی مشابه که روی مخاط دهان انجام‌داده‌بودند، تفاوتی معنی‌دار را میان مخاط نرمال، دیسپلاستیک و تومورال گزارش و روند صعودی تعداد ماست‌سل‌ها را از مخاط نرمال تا SCC مشاهده‌کردند (۹).

جعفری اشکاوندی و همکارانش نیز، تعداد ماست‌سل‌ها را به‌طور معنی‌داری در SCC دهان، بیشتر از مخاط دیسپلاستیک گزارش‌کردند گرچه آنها تفاوتی معنی‌دار در بروز CD31 میان دو گروه ندیدند (۱۲).

همان‌گونه‌که مشاهده‌می‌شود، اغلب مطالعات

[1] - Balica

[2] - Sawatsubashi

[3] - Lamarroon

Archive of SID

www.SID.ir

صورت‌گرفته روی SCC مخاط دهان و مخاط نرمال یا مخاط دیسپلاستیک دهان، به‌طور معنی‌داری، ماست‌سل را در مخاط تومورال، بیشتر از مخاط نرمال گزارش‌کرده‌اند که در این موارد، شاید بتوان تفاوت نتایج مطالعه حاضر با این مطالعات را به محل تومور نسبت‌داد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، مشارکت ماست‌سل‌ها در روند کارسینوژنز در ضایعات پیش‌بدخیم و تومور پیشرفته، چندان تفاوت‌نداشته؛ به‌عبارت‌دیگر، ماست‌سل‌ها فعالیت کارسینوژنز خود را از همان ابتدای پیش‌بدخیمی آغازمی‌کنند.

منابع

1. Douglas RG. Diagnostic surgical pathology of the head and neck. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2009:chapter 2.
2. Robinson RA. Head and Neck Pathology: Atlas for Histologic and Cytologic Diagnosis. Philadelphia; 2010.
3. Balica N, Raica M, Cotulbea S, Doros C. Mast cell reaction in malignant laryngeal neoplasm. *Romanian Journal of Morphology & Embryology* 2007;48(4):395-401.
4. Safi S, Shafaee SH, Bijani A, Adhami F, Evaluation of Mast Cell and Blood vessel Density in Inflammatory Periapical Lesions. *Journal of Mashhad Dental School* 2012;36(2):121-32.
5. Sawatsubashi M, Yamada T, Fukushima N, Mizokami H, Tokunaga O et al. Association of vascular endothelial growth factor and mast cells with angiogenesis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Virchows Archiv* 2000;436:243-248.
6. Ching S, Sullivan M, Yuan L, Davis P, Tan S T. Mast cells dysregulate apoptotic and cell cycle genes in mucosal squamous cell carcinoma. *Cancer Cell International* 2006;6:28-32.
7. Flynn E.A., Schwartz J.L., Shklar G. Sequential mast cell infiltration and degranulation during experimental carcinogenesis. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 1991;117:115-122
8. Nedae M. Histopathology evaluation of mast cell expression In various clinical types of oral lichen-planus with special Dying of Toluidine blue. [Datorate Thesis]. Iran Dental school of ShahedUniversisty; 2009. (Persian)
9. Etemad-Moghadam Sh, Gholamhosseini A, Khorshidian A, Alaeddini M. Compasison of mast cell density in histological differentiation of oral squamous cell carcinoma based on three different valid grading systems. *Journal of Isfahan Dental School* 2014;9(6):509-17
10. Jahanshahi G, Sabaghian M. Comparative Immunohistochemical analysis of angiogenesis and mast cell density in oral normal mucosa and squamous cell carcinoma. *Dental Research Journal* 2012;9(1):8-12.
11. Mohtasham N, Babakoohi S, Salehinejad J, MontaserKouhsariL,Shakeri MT, Shojaee S et al. Mast cell density and angiogenesis in oral dysplastic epithelium and low and high grade oral squamous cell carcinoma. *Acta odontologica Scandinavica* 2010;68:300-304.
12. Jaafari Ashkavandi Z, Moshref M, Mashhadi-Abbas F, Sargolzaie S, Taghavi N. Evaluation of CD31 expression and mast cell count in dysplastic lesions and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Iranian Red crescent Medical Journal.* 2010; 12(3):272-276.

Archive of SID

www.SID.ir