



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Plasmahistaminkoncentration hos hundar med mastocytom

Hanna Axelsson Granvik



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Plasmahistaminkoncentration hos hundar med mastocytom

Plasma histamine concentration in dogs with mastocytoma

Hanna Axelsson Granvik

Handledare:

Eva Hellmén, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2012

Omslagsbild: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:35
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Mastcell, mastcellstumör, mastocytom, histamin, hund

Key words: Mast cell, mast cell tumor, mastocytoma, histamine, dog

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING.....	1
SUMMARY	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT.....	3
Mastcellen	3
Morfologi och histologi.....	3
Degranulering.....	3
Histamin	4
Histaminets effekter i kroppen	4
Mastcellstumör, mastocytom.....	5
Gradering av mastcelltumörer	5
Plasmahistaminkoncentration hos hundar med mastcell tumör	6
DISKUSSION	7
REFERENSER.....	8

SAMMANFATTNING

Mastcellerna deltar i kroppens immunförsvar och utsöndrar flera signalsubstanser och hormoner ut i vävnaderna, dessa substanser har sedan olika effekter på kroppens organ. Histamin är en av dessa substanser och utsöndras från mastcellerna vid inflammation eller vid allergiska reaktioner. Kroppen har fyra histaminreceptorer som alla deltar i inflammationssvaret, de kontraherar glatt muskulatur i exempelvis lungor, livmoder och tunntarm, stimulerar bildningen av saltsyra i magsäcken och gör så att vi får de karaktäristiska myggbetten med svullnad och rodnad.

Mastocytom, mastcellstumör, är en vanlig form av hudtumör hos hundar, de drabbar framför allt vuxna hundar och vissa raser har en ökad risk att utveckla den här typen av tumör. Riskfaktorer tros vara genetiskt påbrå, tidigare inflammation, kronisk inflammation eller eventuellt en viral infektion. Tumörerna uppstår oftast på bålen och i mellangården samt på extremiteterna. Mastocytom varierar ofta i utseende och kan vara svåra att diagnostisera kliniskt utan att först göra en histopatologisk undersökning. Genom åren har flera olika graderingsystem tagits fram för att underlätta diagnostiseringen, det som användas mest i dag är den histologiska Patnaik-graderingen från 1984. Men det används även andra system så man bör vara noga med att hålla koll på vilket system olika veterinärer och patologer hänvisar till.

Mastocytom har högre histaminvolym än normala mastceller och man har sett att hundar med mastocytom har högre plasmahistaminkoncentration än friska hundar. Man har dock inte kunnat koppla plasmakoncentrationen till vare sig storleken på tumören eller dess celltäthet. En effekt som denna högre koncentration har på drabbade hundar är att de lättare får magsår eftersom histaminet ökar produktionen av saltsyra i magsäcken. Detta behandlar man med så kallade H₂-antagonister som hämmar histaminets effekt på magsäckens celler. En studie har även visat att plasmahistaminkoncentrationen hos hundar med mastocytom efter operation av tumören sänktes.

SUMMARY

Mast cells participate in the body's immune system and secrete multiple signal substances and hormones into the surrounding tissues, these substances have different effects on the body's organs. Histamine is one of these substances and it is secreted from mast cells at inflammation or at allergic reactions. The body has four histamine receptors which all participate in the inflammation process, for example they contract smooth muscle cells in the lungs, uterus and small intestine, they stimulate the production of hydrochloric acid in the stomach and gives us the characteristic mosquito bites with the swelling and redness.

Mastocytoma, mast cell tumor, is a common form of skin tumor in dogs, it mostly affects adult dogs and certain breeds have a higher risk of developing this type of tumor. Risk factors are thought to include hereditary, previous inflammation, chronic inflammation and possibly viral infections. The tumors usually appear on the trunk, the perineum and on the extremities. Mastocytoma often varies in appearance and can be difficult to diagnose without first making a histopathological examination. Over the years several different grading systems has been developed to ease the diagnosing, the one used mostly today is Patnaik's system from 1984, but there are several other systems in use so you need to be cautious with what type of system different veterinarians and pathologists refer to.

Mastocytoma has a higher histamine volume then normal mast cells and it has been shown that dogs with mastocytoma have a higher plasma histamine concentration than healthy dogs. It has not been possible to link the plasma concentration to either the size of the tumor or its cell density. One effect this high plasma concentration has on dogs is that they more easily develop gastric ulcer because of the increased production of hydrochloric acid caused by the histamine in the stomach. This is treated with H₂ receptor antagonists, which inhibits the histamines effect on the stomach cells. One study has shown that plasma histamine concentration in dogs with mastocytoma drops after surgical removal of the tumor.

INLEDNING

Upp till 20 % av hudtumörerna som drabbar hundar är mastocytom, mastcellstumörer. Dessa tumörer varierar i utseende och kan kliniskt många gånger vara svåra att diagnostisera om man inte tar biopsiprov och får det analyserat histologiskt. Då mastcellerna är kroppens huvudsakliga producent av hormonet histamin kan jag inte låta bli att undra om hundar som drabbats av mastocytom också har förhöjda histaminkoncentrationer i kroppen till följd av tumörens histaminproduktion? Kan i sådana fall de förhöjda koncentrationerna leda till andra besvär för den drabbade hunden?

MATERIAL OCH METODER

I min sökning efter användbara artiklar har jag använt mig av databasen Web of Knowledge. Sökorden jag använt mig av var bland andra "mastocytoma", "mast cell tumour", "histamine", "canine" och "dog". Dessa ord kombinerade jag på olika sätt och fick på så vis fram lite annorlunda sökresultat. För att begränsa sökresultaten förfinade jag mina sökningar till området "veterinary sciences". Jag letade också artiklar genom att läsa referenserna till de artiklar jag funnit inom området och hittade den vägen fler intressanta studier.

LITTERATURÖVERSIKT

Mastcellen

Morfologi och histologi

Mastceller härstammar från prekursorceller i benmärgen, de transporteras från benmärgen via blodet till bindväv och mukosa i lungor och magtarmkanalen. Det är först när mastcellen migrerat till sin slutgiltiga plats som den prolifererar och samlar på sig sina karaktäristiska granula. Det finns därav två olika sorters mastceller, mukosala mastceller och bindvävs mastceller, det som skiljer dem åt är antalet och storleken på deras cytoplasmatiske granula (Kierszenbaum, 2007).

Mastceller är ovala eller runda och ungefär 20-30 μm i diameter. De har en förhållandevis liten cellkärna som är centralt belägen. Granula som finns i cellernas cytoplasma är 0,3-2,0 μm i diameter och de är metakromatiska, d v s de tar en annan färg än den av färgen de färgas med, exempelvis om man färgar med tolouidin-blått blir granula i mastcellerna lila-röda (Junqueira, 1995).

Degranulering

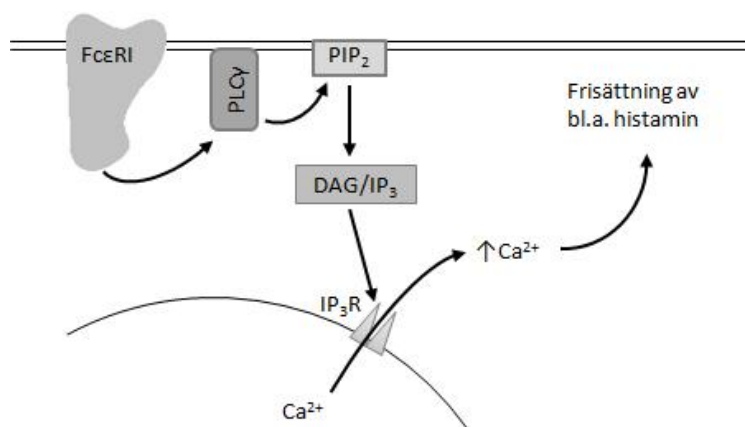
Mastcellernas viktigaste uppgift är att bistå immunförsvaret med hormoner som frisätts från deras granula exempelvis histamin och heparin (Junqueira, 1995). I cellens membran sitter Fc ϵ RI, en sorts receptorer till vilka IgE antikroppar fäster, dessa antikroppar har sin antigenbindande del vänd bort från mastcellen och kan på så vis smaka av omgivningen runt mastcellen. Om det skulle finnas allergen där och två av IgE molekylerna korsbinds kommer

de intracellulära granula med deras hormoner att frisättas (Kierszenbaum, 2007).

Det är ett komplext nätverk av reaktioner som startar inuti mastcellen när antigen bundit till dess FcεRI. Förenklat skulle man kunna beskriva det så här;

FcεRI aktiveras och en fosforylering av fosfolipas Cγ (PLCγ) sker, PLCγ kommer i sin tur att metabolisera PIP₂ från cellens membran vilket leder till att IP₃ och DAG bildas. IP₃ kommer att fästa till sin receptor, IP₃R, på ytan av cellens endoplasmatiska retikulum, ER. Kalcium, Ca²⁺ från endoplasmatiska nätverket (ER) kommer då att frisättas i mastcellens cytosol (Nadler et al., 2000). De förhöjda Ca²⁺ nivåerna i cytosolen kommer i sin tur att medverka till exocytos av granula och hormonerna frisätts från cellen (Nadler et al., 2000; Rang et al., 2012).

Figur 1. Intracellulära steg vid frisättning av histamin



Mastcellen producerar även leukotriener, dessa frigörs inte från dess granula utan syntetiseras från cellmembranets fosfolipider och utsöndras. Leukotriener orsakar långsam kontraktion av glatt muskulatur (Junqueira, 1995).

Histamin

Histamin är ett hormon som utsöndras av mastceller, basofiler, histaminocyter (mastceller i magsäckens lamina propria) och i hjärnans histaminergiska neuron, det är dock mastceller och basofiler som är de celler som har de största mängderna histamin. Histaminet frisätts från mastcellerna via exocytos vid inflammation och allergiska reaktioner. När histaminet har frisätts från mastcellen tar det flera dagar till veckor innan det syntetiserats nytt histamin igen, däremot går det snabbare i magtarmkanalen där det är histaminocyter som står för den mesta histaminproduktionen.

Histaminet metaboliseras av histaminas och/eller av enzymet *imidazole N-metyltransferas*. Det finns i kroppen flera olika sorters histamin receptorer H₁, H₂, H₃ och H₄, alla fyra deltar i inflammationssvaret. Man vet i dag mer om de tre första receptoreorna då den fjärde fortfarande är lite av en gåta (Rang et al., 2012).

Histaminets effekter i kroppen

Histaminet har olika verkan på olika delar av kroppen, det kontraherar glatt muskulatur i

ileum, bronkerna, bronkiolerna och livmodern genom att binda till sin H₁ receptor. I hjärtkärlsystemet dilateras blodkärlen via samma receptor och hjärtats output ökas via H₂ receptorer i hjärtmuskeln. I magen stimulerar histamin sekretion av saltsyra från parietalcellerna via dess H₂ receptor, detta utnyttjas inom farmakologin för att behandla och motverka uppkomsten av magsår. Effekterna som fås i huden vid exempelvis ett myggbett uppstår också av histaminet, rodnaden uppstår pga vasodilatation av de små arteriolerna och svullnaden pga ökad permeabilitet i de postkapillära venerna. Dessa effekter styrs också till störst del av H₁ receptorer (Rang et al., 2012).

Mastcellstumör, mastocytom

Mastcellstumörer, MCT, är en vanlig form av kutana tumörer hos hundar. Ungefär 7 till 20% av hudtumörerna är MCT (Patnaik et al., 1984; Macy & McEwen, 1989; London & Seguin, 2003). Boxers, boston terriers och bulldogs har man i USA sett ha en ökad risk för att utveckla MCT och man tror att det beror på deras gemensamma härkomst från engelska raser som engelsk bulldog och engelsk bullterrier då dessa också är predisponerade att utveckla MCT. Man har också sett att de raser som är överrepresenterade beror på vilket land man tittar på. I Tyskland är det boxrar, taxar och berner hundar som hade högst risk för MCT (Misdorp, 2004). Hundarna är oftast ungefär 8,5 år gamla när de utvecklar MCT men det förekommer att yngre hundar insjuknar (Macy & McEwen, 1989; O'Keefe 1990). Riskfaktorer för uppkomst av MCT tros vara genetiskt påbrå, tidigare inflammation eller kronisk inflammation och eventuellt viral infektion (Macy & McEwen, 1989).

Mastceller finns normalt i lungorna och i magtarmkanalen men det är sällsynt att det bildas en MCT i de organen. I de fall det bildas en visceral MCT föregås ofta den/de tumörerna av den kutana varianten av MCT (Macy & McEwen, 1989; Welle et al., 2008). De kutana MCT kan uppstå överallt på kroppen men har visat sig uppstå oftare på bålen och i mellangården (50%) samt på extremiteterna (40%) (O'Keefe, 1990).

Gradering av mastcelltumörer

Mastcellstumörer har genom åren angivits olika graderingssystem, man utgår från lite olika saker i graderingarna bland annat, histologisk bild, celltäthet, förekomst av mitoser, om tumören har metastaserat, antalet tumörer hos djuret etc. (Patnaik et al., 1984; Macy & McEwen, 1989; Welle et al., 2008). Bostock's graderingssystem sätter de mest maligna tumörerna som grad I, Patnaik graderar dem som grad III och world health organization, WHO, som grad IV enligt Tabell 1 (Patnaik et al., 1984; Welle et al., 2008). Det finns i dag inget generaliserat graderingssystem och olika forskare tenderar till att använda sitt egna system till MCT graderingen (Welle et al., 2008). Dock är Patnaik's ett av de vanligaste som används (Kiupel et al., 2001).

Patnaik et al. (1984) har i sin studie sett att tiden för överlevnad beror på graden av cellulär differentiering hos tumörerna och graderingssystemet de tog fram var statistiskt signifikant gällande överlevnaden och gradering på mastcelltumören hos de 83 hundar de undersökte. MCT av grad I var begränsade till dermis, bestod av väldifferentierade mastceller i smågrupper eller rader separerade av kollagena fibrer från dermis. Man ser inga mitoser i

cellerna och de skiljer sig inte mycket från icke neoplastiska mastceller, det är minimalt med ödem och nekros. Grad II består av MCT med fler celler som infiltrerar subkutis och ibland även skelettmuskulaturen. Måttligt pleomorfa celler i grupper där det i vissa fall förekommer tjocka band med icke neoplastiska celler, stroma, som har områden med hyalinisering. Vissa av mastcellerna i tumören var jätteceller och andra celler hade otydlig cytoplasma med stora hyperkromatiska granula. Mitoser var ovanliga men vissa celler hade dubbla cellkärnor eller enkla cellkärnor med utspritt kromatin. Det förekom också områden med diffust ödem och nekros. Den mest maligna graden av MCT, grad III, är cellulära, pleomorfa tumörer som spridits till subkutis och till djupare vävnader. Den icke neoplastiska stroman är fibrovaskulär eller fibrokollagen med hyalinisering i de nära packade tumörcellerna. Cellkärnorna var inbuktade med en eller flera nucleoler, celler med fler cellkärnor var vanliga likaså mitotiska celler. Cytoplasman är otydlig med fina eller nära på frånvarande granula. Ödem, blödningar och nekros är vanligt förekommande.

Tabell 1. Olika sätt att gradera mastcellstumörer (Macy & McEwen, 1989; Fox et al., 1990; O'Keefe, 1990)

Histologiskbild och kliniskt stadie	Patnaik's histologiska gradering	Bostock's histologiska gradering	WHO's kliniska gradering	Histamin-koncentration (medelvärde)
En väldifferentierad tumör begränsad till dermis. Avsaknad av mitoser. Skiljer sig inte så mycket från icke neoplastiska mastceller. Regionala lymfknotor är inte drabbade.	I	III	I	1.4 ng/ml
En tumör, begränsad till dermis, som även involverar regionala lymfknotor.	-	-	II	
Infiltration i subkutis. Förekomst av jätteceller, dubbla cellkärnor och stora hyperkromatiska granula.	II	II	III	3.4 ng/ml
Mitotiska celler vanligt är förekommande, otydlig cytoplasma, få eller nära på frånvarande granula. Ödem, blödningar och nekros vanligt. Metastaser förekommer.	III	I	IV	3.3 ng/ml

Plasmahistaminkoncentration hos hundar med mastcellstumör

Mastcellstumörer har visat sig ha högre histaminvolym än normala icke neoplastiska mastceller, dock varierar koncentrationen av histaminet ordentligt med olika MCT och tycks vara beroende av deras celltäthet men oberoende av volymen på tumören (Fox et al., 1990; van Gelderen et al., 2011). Då histaminet påverkar utsöndringen av saltsyra i magens parietalceller har man haft som hypotes att hundar med MCT lättare skulle utveckla magsår (Fox et al., 1990). I senare studier har man sett att upp till 80% av hundar med progressiv MCT har drabbats av magsår och man anser att den största faktorn till den ökade mängden

saltsyra uppstår till följd av hyperhistaminemi. Dessa hundar behandlas ofta med H₂ blockare för att minska produktionen av saltsyra genom att motverka histaminets verkan på parietalcellerna. Om hundarna som behandlas inte blir bättre av H₂-blockare kan de ha en så pass kraftig hyperhistaminemi att andra läkemedel bör tillämpas för att lyckas blockera histaminets effekt (Ishiguro et al., 2003).

Studier har visat att plasmahistaminkoncentrationen, PHK, hos hundar som lider av MCT var signifikant högre än friska hundar, man har dock inte kunnat finna några samband till den histologiska graderingen eller storleken på tumören och PHK. (Fox et al., 1990). Senare studier har dock visat på ett samband mellan PHK och tumörsjukdomens utveckling, då framför allt vid metastaseringen av tumören i kroppen (Ishiguro et al., 2003).

Vid undersökning av PHK i hundar med MCT före och efter operation har man kunnat se en minskning av PHK. Studien gjordes på 35 hundar av olika raser, den största delen bestod av olika sorters retrievers (12 st). Hundarna var i olika åldrar från 1 år och 4 månader till 14 år där medelåldern var 8 år och 6 månader. Det fanns tikar, hanar och kastrat av båda kön. Förändringen i PHK som sågs var dock inte i sådan mängd att det är statistiskt signifikant och man tror att bättre resultat hade uppnåtts om blodprovstagning efter operation inte hade gjorts så nära på operationen, hade man väntat i några dagar hade kroppen hunnit bryta ner det redan bildade histaminet och resultatet hade blivit annorlunda (van Gelderen et al., 2011). Man har tidigare haft som förhoppning att det kan vara till nytta att kontrollera PHK innan operation för att postoperativt kunna jämföra koncentrationerna. Förhoppningen var att provsvaret man då får ska vara lägre och på så vis ge svar på om man lyckades avlägsna hela mastcellstumören vid operationen. Eftersom PHK är oberoende av tumörens storlek borde man här kunna fånga upp även mikroskopiska rester av den ursprungliga MCT eller metastaser av den (Fox et al., 1990). Något som däremot talar emot att sådana prover skulle vara till nytta är att de mest maligna och odifferentierade mastcellstumörerna ofta inte har histamininnehållande granula i sin cytoplasma (Patnaik et al., 1984).

DISKUSSION

Enligt den forskning jag hittat på området har hundar med mastocytom högre plasmahistaminkoncentration i kroppen. Huruvida detta sedan kan användas som bekräftelse på om en operation av tumören varit lyckad verkar osannolikt. Detta till exempel för att de malignaste tumörerna enligt Patnaik's (1984) forskning ibland inte har några histamingranula i sina celler, de kan då inte heller bidra till någon högre plasmakoncentration. Kanske kan undersökningen göras i de fall där det redan innan operation finns information om vilken histologisk grad det är på tumören, de mer väldifferentierade tumörcellerna har ju fortfarande kvar sina granula i cytoplasman och en borttagning av dessa torde ju i min mening leda till en minskad plasmahistaminkoncentration.

Det finns dock flera saker att beakta innan man kan göra en sådan undersökning med ett tillförlitligt resultat. I studien som van Gelderen et al. gjorde 2011 användes 35 hundar med MCT och som kontrollgrupp användes 10 friska tikar som alla opererades för ovariehysterektomi. Eftersom bukingrepp kan leda till höjda PHK påverkade detta säkert

resultatet av studien och jämförelsen mellan de två grupperna, då hundarna som opererades för MCT inte utsattes för några bukingrepp (van Gelderen et al., 2011). Även olika läkemedel kan påverka PHK, exempelvis acepromazin som i varierande grad kan fungera som antihistamin blockare och propofol som hos vissa patienter kan orsaka histaminfrisättning (Plumb, 2005). I en undersökning gjord på människor har en histaminökning setts vid iläggande av permanentkanyler, om så även är fallet på hundar så spelar ju även detta roll för pre- och posthistaminkoncentrationer då permanentkanyler oftast används vid operationer (van Gelderen et al., 2011). Eftersom så många olika faktorer spelar in vid en vetenskaplig studie tycker jag att man borde vara mer noggrann när man väljer ut hundar både till studien i sig och till kontrollgruppen som ska användas. Medicinering mot andra ev. sjukdomar, val av anestesimedel och ingrepp på kontrollgruppens hundar borde kontrolleras och beaktas. Det vore ju kanske bättre om hundarna i kontrollgruppen också fick hudtumörer bortopererade (dock inte MCT) och inte utsattes för andra operationer med bukingrepp.

De hundar som drabbas av MCT löper enligt forskningen jag läst också högre risk att utveckla magsår till följd av de höga plasmahistaminkoncentrationerna. Denna sekundära åkomma borde det kanske också forskas mer på, hur hög PHK krävs för att ulcerationer ska utvecklas i magen hos dessa hundar och hur ofta får hundar med MCT magsår? Eftersom NSAID preparat också ökar risken för magsår bör hundar med MCT behandlas med andra smärtstillande läkemedel i de fall det behövs. Detta för att minska risken för att magsår utvecklas.

Något som också kan tänkas på är att mastceller faktiskt utsöndrar andra hormonmediatorer, enzymer och signalsubstanser än bara histamin och kanske kan något/några av dessa med större säkerhet kan användas som kontrollparametrar vid borttagning av MCT. Det pågår till exempel forskning på en stamcellsfaktor receptor, KIT som finns på mastceller, forskning har visat på att det finns en större mängd KIT uttryck på mastceller som är lågt differentierade. KIT kodas av proto onkogenen c-kit och i 15-40% av MCT hos hundar finns det mutationer på denna gen (Welle et al., 2008). Inom detta område tror jag att det kommer fortsätta att forskas de närmaste åren. Skulle det vara möjligt att hämma tillväxten av en MCT med ett läkemedel som har KIT som målstruktur? Forskningen tyder på det och vi får hoppas att den fortsätter att göra det.

REFERENSER

Fox, L.E., Rosenthal, R.C. & Twedt, D.C. Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1990; 4: 242–6.

van Gelderen, A., Archer, J. & Herrtage, M.E. (2011). Pre- and post-operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumours. *Comp Clin Pathol*, 20, 209–215.

Ishiguro, T., Kadosawa, T., Takagi, S., Kim, G., Ohsaki, T., Bosnakovski, D., Okumura, M. & Fujinaga, T. (2003). Relationship of disease progression and plasma histamine concentrations in 11 dogs with mast cell tumors. *Journal of veterinary internal medicine*, 17, 194-198.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. & Kelley, R.O. (1995). *Basic histology*. 8. uppl. London: Appleton & Lange.

Kierszenbaum, A.L. (2007) *Histology and cell biology: An introduction to pathology*. 2. uppl. Philadelphia. Mosby Elsevier

Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., Fitzgerald, S. D., Gamble, D., Ginn, P. E., Goldschmidt, M. H., Hendrick, M. J., Howerth, E. W., Janovitz, E. B., Langohr, I., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., Miller, M. A., Misdorp, W., Moroff, S., Mullaney, T. P., Neyens, I., O'Toole, D., Ramos-Vara, J., Scase, T. J., Schulman, F. Y., Sledge, D., Smedley, R. C., Smith, K., Snyder, P. W., Southorn, E., Stedman, N. L., Steficek, B. A., Stromberg, P. C., Valli, V. E., Weisbrode, S. E., Yager, J., Heller, J. & Miller, R. (2011). Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Veterinary Pathology*, 48, 147-155

London, C.A. & Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 33, 473-489.

Macy, D.W. & MacEwen, E.G. (1989). Mast cell tumors. I: S.J. Withrow, & E.G. MacEwen, eds. *Clinical veterinary oncology*. Philadelphia. J.B. Lippincott Company. 156-166.

Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *Veterinary Quarterly*. 26. 156-169.

Nadler, M.J., Matthews, S.A., Turner, H., Kinet, J.P. (2000) Signal transduction by the high-affinity immunoglobulin E receptor Fc epsilon RI: Coupling form to function. *Advances in immunology*, 76, 325-355.

O'Keefe DA. (1990). Canine mast cell tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 20. 1105-15.

Patnaik, A.K., Ehler, W.J. & MacEwen, E.G. (1984) Canine cutaneous mast cell tumor: Morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary Pathology*. 21. 469-474.

Plumb, D.C. (2005) *Plumb's veterinary drug handbook*. 5. Uppl. Blackwell Publishing professional, 160-161, 688-690.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J. & Henderson, G. (2012). *Rang & Dale's pharmacology*. 7. Uppl. Edinburgh. 210-211.

Welle, M. M., Rohrer Bley, C., Howard, J. & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x