

# NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM BỆNH LÝ CỦA CHÓ BỊ MẮC KHỐI U LYMPHO VÀ ỨNG DỤNG KỸ THUẬT HÓA MÔ MIỄN DỊCH ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH

. Nguyễn Thị Lan, . Nguyễn Thị Huyền

Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

## TÓM TẮT

Chúng tôi đã nghiên cứu và làm rõ thêm một số đặc điểm bệnh lý của chó bị mắc khối u lympho (lymphoma). Dấu hiệu đầu tiên của chó mắc lymphoma là sốt nhẹ, giảm ăn, giảm cân nhiều trong thời gian ngắn, nôn mửa, tiêu chảy, phân lẫn máu thường xảy ra ở chó mắc lymphoma đường tiêu hoá, trên da <sup>+</sup> xuất hiện các nốt mụn có mủ, các vảy bám trên da, lông rụng thành từng mảng. Bệnh tích đại thể đặc trưng nhất là các hạch lympho sưng to. Trên các cơ quan mà khối u lympho di căn đến và phát triển thì có sự xuất hiện của các khối u cục với kích thước to, nhỏ khác nhau, màu trắng hơi vàng do sự tăng sinh quá mức của tế bào ung thư. Bệnh tích vi thể cho thấy tế bào lympho to nhỏ không đều, nhân có thể hình quái, không bình thường. Một số mạch quản có chứa tế bào khối u lympho trong lòng. Các tế bào khối u lympho dương tính với kháng thể CD3 khi làm phương pháp hóa mô miễn dịch, chứng tỏ khối u lympho ở chó có nguồn gốc từ tế bào lympho B.

*Từ khóa:* Chó, Lymphoma, Đặc điểm bệnh lý, Hóa mô miễn dịch, .

## Research on some pathological findings of dogs suffering from lymphoma and using immunohistochemistry test for diagnosis

. Nguyễn Thị Lan, . Nguyễn Thị Huyền

### SUMMARY

Some pathological findings of dogs suffering from lymphoma were researched. The first signs of dogs suffering from lymphoma was mild fever, anore<sup>+</sup>xia, losing weight. Vomiting, diarrhea, feces with blood usually occurs in dogs suffering from lymphoma skin nodules appearing pustules, the lateral grip on the skin, shedding hair pieces were seen in dog infected lymphoma. Main gross lesions is enlargement of lymph node. In case of metastases, the tumor in different size with white yellowish color could be seen in many organs. Microscopically, neoplasm cells showed irregular shape, irregular nuclei and mitotic figures. Neoplasm cells could be seen in the vessels. By immunohistochemistry, neoplasm cells were positive with CD3 antibody. These results indicated that the dogs suffered from lymphoma originated from B lymphocyte

*Key words:* Dog, Lymphoma, Pathological features, Immunohistochemistry test.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Do có bản tính thông minh, nhanh nhẹn lại trung thành, chó nhanh chóng được yêu thích và dần trở thành người bạn thân thiết, là một thành viên trong gia đình chứ không đơn thuần được nuôi để trông nhà như trước đây. Chính vì thế mà tại các thành phố lớn, song song với việc nuôi dưỡng chu đáo, thì việc chăm sóc sức khoẻ cho những chú chó cũng ngày càng được chủ nuôi quan tâm, chú trọng. Không như những loài động vật khác, chó cũng thường mắc các bệnh giống như của con người, trong đó có bệnh ung thư. Và lymphoma là bệnh ung thư phổ biến thứ 3 được chẩn đoán ở trên chó (Morrison, 2004). Đây là một bệnh ung thư của các tế bào lympho-một dạng của tế bào máu và các mô lymphoid. Ung thư là bệnh của tế bào và có 2 đặc trưng chính: Sinh sản tế bào vô hạn và không biệt hoá, xâm lấn phá hoại các tổ chức xung quanh và có thể di căn đi nơi khác (Đái Duy Ban, 2002). Theo Khuất Hữu Thanh (2005): Khối u tạo thành do các gen ung thư hoặc gen kìm hãm ung thư bị rối loạn hoặc mất chức năng, dẫn đến sự phân chia vô hạn của các tế bào ung thư trong khi các tế bào xung quanh phân chia bình thường. Tỷ lệ gia súc cũng

như người chết vì mắc khối u lympho rất cao, có thể đến 100%.

Trên thế giới, hiện nay đã có rất nhiều nghiên cứu khoa học về bệnh lymphoma. Tuy nhiên, ở Việt Nam thì đây vẫn là một lĩnh vực mới, các tài liệu nghiên cứu về vấn đề này còn rất hạn chế. Việc nghiên cứu về lymphoma nhằm mục đích nêu lên được tình hình biến đổi đại thể và vi thể của khối u lympho, cung cấp thêm tài liệu khoa học giúp các bác sĩ thú y chẩn đoán phát hiện bệnh sớm và có phác đồ điều trị đúng đắn cho những chú cún cưng bị mắc bệnh. Đồng thời, kết quả nghiên cứu sẽ giúp cho các nhà khoa học có thể tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế sinh bệnh, cơ chế di căn của bệnh. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu một số đặc điểm bệnh lý của chó bị mắc lymphoma và ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch để chẩn đoán bệnh.

## **II. VẬT LIỆU- PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Vật liệu**

Mẫu bệnh phẩm lấy từ gan, thận, não, ruột, hạch, lách, tim và vú của chó nghi bị lymphoma tại Bệnh viện thú y trường ĐHNN Hà Nội và một số phòng khám thú y trên địa bàn Hà Nội.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.2.1. Phương pháp quan sát, mổ khám**

Triệu chứng lâm sàng của chó nghi mắc lymphoma được xác định thông qua theo dõi, quan sát và ghi chép ngay từ khi chó xuất hiện những triệu chứng đầu tiên. Đồng thời, chúng tôi cũng kết hợp với việc thu thập thông tin từ chủ nuôi chó và cán bộ thú y để thuận lợi hơn cho việc chẩn đoán.

#### **2.2.2. Phương pháp quan sát biến đổi đại thể**

Các biến đổi đại thể của chó nghi mắc lymphoma được xác định qua mổ khám những chó có biểu hiện triệu chứng lâm sàng của bệnh.

#### **2.2.3. Phương pháp làm tiêu bản bệnh lý**

Tiến hành thu mẫu các cơ quan như hạch, lách, phổi, tim gan,...ngâm trong formol 10%, làm tiêu bản vi thể theo quy trình tẩm đúc bằng parafin, nhuộm Hematoxilin – Eosin.

#### **2.2.3. Phương pháp làm hóa mô miễn dịch**

Nhuộm hoá mô miễn dịch theo quy trình của Phòng thí nghiệm trung tâm – khoa Thú y và bộ môn Bệnh lý – khoa Thú y của trường ĐHNN Hà Nội. Kỹ thuật hóa mô miễn dịch gồm các bước cơ bản sau:

- Tiến hành làm sạch tiêu bản vi thể bằng cách khử parafin, khử +ylen, khử cồn giống phương pháp làm tiêu bản vi thể, để tiêu bản dưới vòi nước chảy 30 giây và rửa lại tiêu bản bằng nước cất. Hoạt hóa enzym bằng cách ngâm ngập tiêu bản trong dung dịch PBS (phosphat buffer saline) 1<sup>+</sup> và hấp ướt ở 121°C trong 5 phút. Khử pero<sup>+</sup>ydase nội sinh bằng cách sử dụng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong môi trường methanol và ngâm tiêu bản trong 10 phút. Gắn kháng thể kháng khối u lymphoma chuẩn lên tiêu bản, để ở tủ ẩm 37°C trong 1 giờ hoặc 4°C qua đêm. Gắn kháng thể có gắn enzym lên tiêu bản. để tủ ẩm 37°C trong 1 giờ, rửa tiêu bản bằng PBS, lặp lại bước này 3 lần (5 phút một lần). Cho cơ chất bằng cách ngâm tiêu bản trong dung dịch DAB (Diaminobenzidine) khoảng 3 – 8 phút. Nhuộm nhân tế bào bằng Hema<sup>+</sup>tilin trong 30 giây. Làm sạch, gắn baume canada và quan sát bằng kính hiển vi quang học.

## **III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **3.1. Triệu chứng lâm sàng của chó bị ung thư**

Theo dõi triệu chứng lâm sàng, đồng thời thu thập một số mẫu cơ quan, bộ phận của 5 con chó nghi bị mắc ung thư tại bệnh viện thú y và phòng khám thú y. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

**Bảng 1. Đặc điểm chó nghi bị ung thư**

STT	Giống	Giới tính	Lứa tuổi	Đặc điểm	Triệu chứng lâm sàng
1	Chó lai German Shepherds	Đực	7 tuổi	Lông vàng pha lẫn màu đen, khối lượng 40kg	Sốt, sút cân, nổi hạch ở dưới da, cổ, trên da xuất hiện các nốt viêm có mũ, lông rụng từng mảng
2	Chó Beagle	Cái	9 tuổi	Lông vàng đen, khối lượng 35kg	Ở trên da xuất hiện các cục u nhỏ, vùng da dưới bụng thường nóng và sần, hạch sưng to, nổi rõ.
3	Golden Retriever	Đực	6 tuổi	Lông vàng, khối lượng 25kg	Hạch vùng cổ, nách nổi to, rõ, cứng, có triệu chứng khó thở
4	Basset Hound	Cái	8 tuổi	Lông màu hạt dẻ, màu trắng, khối lượng 25kg	Hạch vùng cổ nổi rõ, bỏ ăn, sút cân
5	Golden Retriever	Cái	10 tuổi	Lông vàng, khối lượng 30kg	Nôn mửa, giảm cân, tiêu chảy ra máu, hạch vùng nách, ngực sưng to

Qua bảng 1 chúng tôi thấy bệnh thường xảy ra ở những giống chó nhập lai, chó nhập ngoại vào Việt Nam như Beagle, Golden Retriever... ở độ tuổi từ 7-10 tuổi (chó già). Điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Morrison (2004). Theo chúng tôi, có thể giải thích điều này như sau: Lymphoma là một bệnh liên quan đến hệ bạch huyết- hệ thống miễn dịch của cơ thể. Có thể ở những con chó trung tuổi, chó già tiếp xúc với các tác nhân bất lợi, có khả năng sinh ung thư lâu năm nên tăng khả năng mắc bệnh lymphoma hơn.

Nghiên cứu triệu chứng lâm sàng của chó bị lymphoma chúng tôi thấy rằng: triệu chứng lâm sàng của bệnh rất thay đổi, phụ thuộc vào vị trí mà khối u phát triển cũng như mức độ phát triển của nó. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2. Triệu chứng lâm sàng của chó bị bệnh lymphoma**

STT	Sốt	Ho, khó thở	Giảm ăn, sút cân	Nôn mửa	Hạch sưng	Rụng lông	Tiêu chảy ra máu
1	+	-	+	-	+	+	-
2	+	-	+	-	+	-	-
3	+	+	+	-	+	-	-
4	-	-	+	+	+	-	-
5	+	-	+	+	-	-	+

Chú thích: (+) là có triệu chứng

(-) là không có triệu chứng

Tùy thuộc vào từng dạng lymphoma khác nhau mà chó bị bệnh sẽ có những biểu hiện triệu chứng lâm sàng khác nhau. Nôn mửa, tiêu chảy, phân lẫn máu thường xảy ra ở chó mắc lymphoma đường tiêu hoá (gastrointestinal lymphoma), hay trên da xuất hiện các nốt mụn có mũ, các vảy bám trên da, lông rụng thành từng mảng. Ho, khó thở thường gặp ở lymphoma hạch trung thất (mediastinal lymphoma). Có thể giải thích triệu chứng này có thể do khi hạch trung thất ở vùng ngực bị khối u sẽ phát triển dần lên rồi chèn ép phổi làm phổi bị thu hẹp diện tích dẫn đến khó thở. Đồng thời, lymphoma hạch trung thất cũng là nguyên nhân gây ra dịch ở phổi, kích thích gây ho. Những kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Lucas và cộng sự (2007); (Lowe A, 2004); (Bhang D và cộng sự, 2006).

### 3.2. Biến đổi bệnh lý của chó mắc lymphoma

### 3.2.1. Bệnh tích đại thể của chó mắc lymphoma

Chúng tôi đã mổ khám 5 con chó bị mắc lymphoma, theo dõi một số biến đổi đại thể, kết quả được chúng tôi tổng kết ở bảng 3.

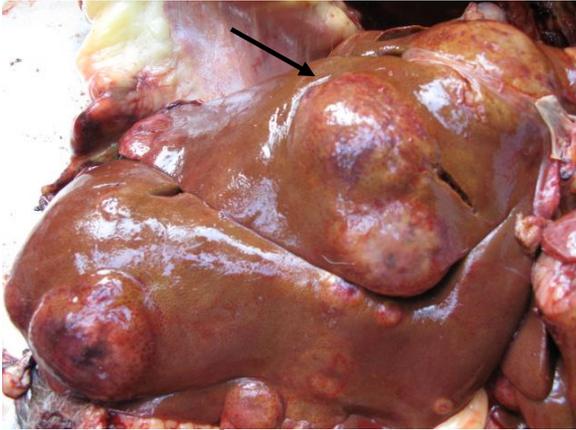
**Bảng 3. Bệnh tích đại thể của chó mắc Lymphoma**

STT	Chó	Hạch	Gan	Phổi	Thận	Lách	Ruột	Vú
1	C1	Sung to đỏ, xuất huyết ở trên bề mặt	Sung to, trên bề mặt có <sup>+</sup> uất huyết điểm	Viêm, màu nhợt nhạt	BT	Trên bề mặt lách <sup>+</sup> uất hiện nhiều nốt nhỏ lấm tấm, màu trắng	Niêm mạc ruột xuất huyết điểm	BT
2	C2	Sung to, xuất huyết lấm tấm trên bề mặt	BT	Bị viêm, màu sắc nhợt nhạt	Sung to, bề mặt căng, bên trong bề thận có xuất huyết điểm	BT	BT	xuất hiện 1 số cục u cứng, không đau ở vú. Vùng da xung quanh có các vết sần sùi, màu đỏ sẫm
3	C3	Sung to, căng, mềm	xuất hiện nhiều hạt trắng, to nhỏ khác nhau trên bề mặt của gan	sung huyết, có một số nốt sần màu trắng hoặc màu nâu đen nhỏ <sup>+</sup> uất hiện trên bề mặt	Sung to, trên bề mặt thận <sup>+</sup> uất hiện các nốt màu trắng to, nhỏ không đều	BT	Viêm <sup>+</sup> uất huyết, niêm mạc ruột <sup>+</sup> uất huyết thành ruột dày lên	BT
4	C4	Sung to	<sup>x</sup> uất hiện một vài điểm nhỏ màu trắng hơi vàng	BT	BT	Sung, trên lách nổi rõ một số nốt nhỏ màu trắng xám, có hiện tượng xuất huyết, dễ vỡ.	BT	BT
5	C5	Hạch màng treo ruột sung to gấp 3-4 lần bình thường, thường chập lại với nhau tạo thành một khối lớn, chắc	Sung to, có một vài khối u to màu <sup>+</sup> ám	Viêm rải rác ở hai bên phổi	BT	Sung to, dễ vỡ	Sung to, có nổi các cục to nhỏ trong lòng ruột, niêm mạc ruột dày lên, <sup>+</sup> uất huyết	BT

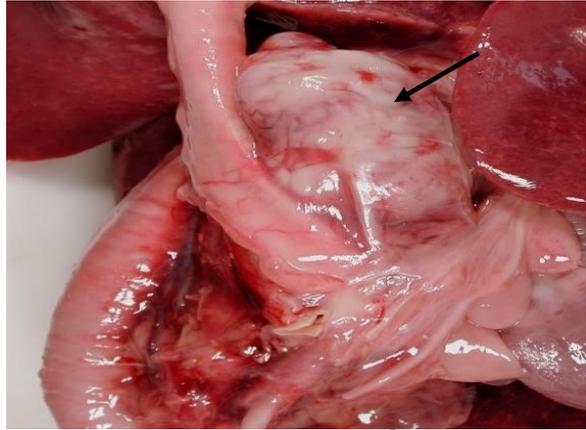
Chú thích: BT là bình thường, cơ quan đó không có biến đổi bệnh lý gì đặc biệt

Qua bảng 3 cho thấy bệnh tích đại thể của chó mắc lymphoma thay đổi tùy thuộc vào từng dạng bệnh, cũng như mức độ di căn của bệnh. Nhưng đặc trưng nhất của bệnh là hiện tượng các hạch lympho có sự sung to. Tuy nhiên, các hạch lympho sung to và nổi rõ thường ở vùng dưới da cổ, nách và háng của chó bệnh. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Morrison (1998).

Ở những trường hợp di căn, ta thấy trên các cơ quan mà ung thư hay di căn đến và phát triển như gan, thận, lách... thường có sự xuất hiện của các khối u cục có kích thước to, nhỏ khác nhau màu trắng hơi vàng ở đó do sự tăng sinh quá mức của tế bào ung thư.



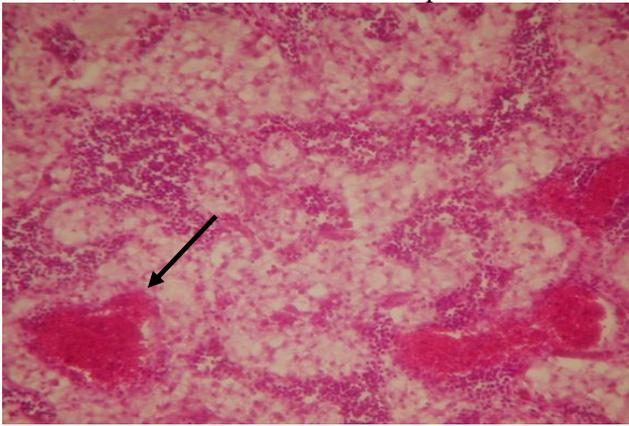
**Hình 3. Gan <sup>+</sup>uất hiện các cục u to nhỏ khác nhau trên bề mặt**



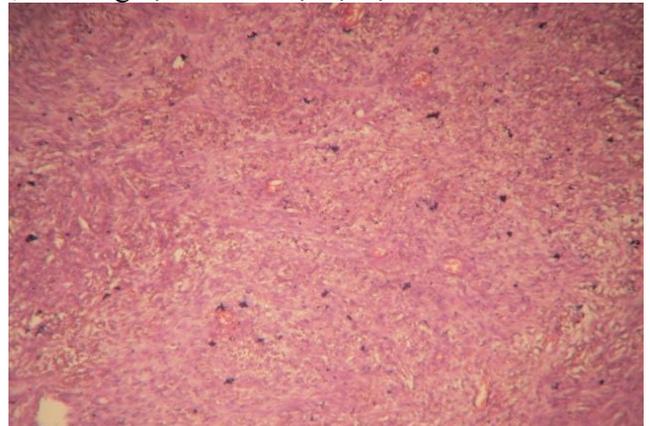
**Hình 4. Hạch trung thất sưng to**

### 3.2.2. Bệnh tích vi thể của chó mắc lymphoma

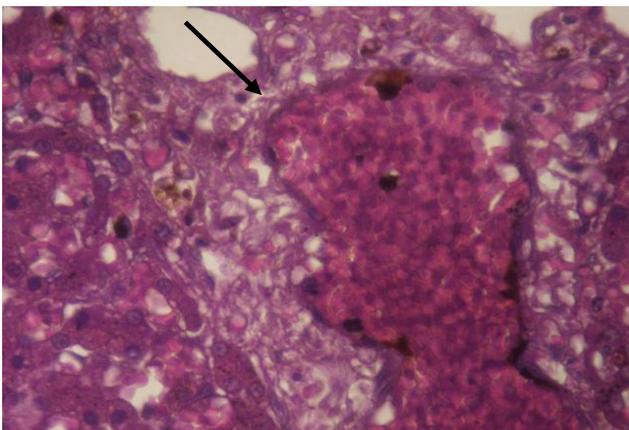
Trên 5 chó được mổ khám quan sát các biến đổi đại thể, chúng tôi tiến hành lấy mẫu các cơ quan, bộ phận: Hạch, phổi, lách, thận, ruột. Sau đó tiến hành làm tiêu bản vi thể để xác định các biến đổi vi thể. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 4, các hình 5, 6, 7, 8.



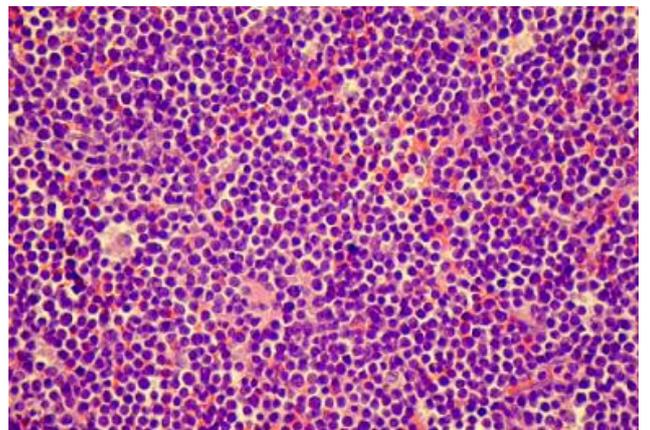
**Hình 5. Phổi sung huyết, có nhiều hồng cầu và dịch rỉ viêm (HE <sup>+</sup>100)**



**Hình 6. Gan bị mất cấu trúc (HE <sup>+</sup>100)**



**Hình 7. Lách xuất huyết và chứa nhiều hemosiderin (HE <sup>+</sup>400)**



**Hình 8. Hạch lâm ba tăng sinh tế bào lympho (HE <sup>+</sup>400)**

**Bảng 4. Bệnh tích vi thể của chó mắc lymphoma**

STT	Chó	Hạch	Gan	Phổi	Thận	Lách	Ruột	Vú
1	C1	- Sung huyết, xuất huyết - Hoại tử	- Sung huyết, có sự thâm nhập của tế bào viêm	- Sung huyết, xuất huyết - Lòng phế quản có nhiều dịch viêm, tế bào viêm	BT	- Xuất huyết, có nhiều hemosidrin màu nâu vàng do hồng cầu bị vỡ	Xuất huyết ruột	BT
2	C2	- Sung huyết, xuất huyết	BT	-Xuất huyết phổi, có nhiều dịch viêm trong lòng phế quản	- Xuất huyết thận, viêm cầu thận, kẽ thận có nhiều hồng cầu, bạch cầu.	BT	BT	-Tế bào biểu mô tuyến vú có sự thay đổi cấu trúc bình thường, sắp xếp lộn lộn
3	C3	-Xuất huyết - Hoại tử, số lượng tế bào lympho ít, xuất hiện tế bào xơ	Tế bào gan thay đổi hình thái, cấu trúc, sắp xếp lộn xộn. - Có sự +âm lẫn của các tế bào ung thư	-Xuất huyết phổi - Trong lòng phế nang có dịch viêm, có sự xâm lấn của các tế bào viêm và tế bào lympho	- Viêm cầu thận, kẽ thận. - Có hiện tượng thoái hoá kính - Có sự +âm lẫn của các tế bào ung thư	BT	- Ruột xuất huyết, có sự +âm nhập của tế bào viêm	BT
4	C4	Hoại tử	-Có sự thay đổi hình thái bình thường của tế bào gan - Tĩnh mạch gan sung huyết, có xuất hiện tế bào lạ	BT	BT	- Lách có lắng đọng hemosidrin màu nâu vàng do hồng cầu bị vỡ, có các đám lympho	BT	BT
5	C5	Hoại tử, số lượng lympho bào ít, có sự xuất hiện của tế bào xơ	-Gan sung huyết, có sự xâm nhập của một số tế bào lạ	- Có dịch viêm trong lòng phế nang, lẫn các tế bào viêm	- Cầu thận bị viêm, trong lòng chứa các tế bào hồng cầu, bạch cầu.	- Có nhiều đám hemosidrin trong lách	-Ruột bị xuất huyết, có nhiều tế bào viêm	BT

*Chú thích:* BT là bình thường

Từ bảng trên ta thấy, bệnh tích vi thể chủ yếu của bệnh là có sự xâm nhập và phát triển thành từng khối của tế bào ung thư trong tổ chức cơ quan nó di căn đến như phổi, lách, gan, thận... Sự tăng sinh của tế bào ung thư này đã làm cho cơ quan tổ chức đó bị tổn thương, biến đổi cấu trúc bình thường của cơ quan đó.

### 3.3. Kết quả nhuộm hoá miễn dịch một số cơ quan của chó nghi mắc lymphoma

Để khẳng định cho kết quả nghiên cứu về bệnh tích đại thể và vi thể trên các chó nghi mắc lymphoma, chúng tôi tiến hành nhuộm hóa miễn dịch tổ chức với các khối u ở phổi, hạch, lách, gan của 5 con chó bệnh bằng kỹ thuật hoá mô miễn dịch với các kháng thể đặc hiệu được sử dụng gồm: CD3 (DAKO 1:100), CD79 (DAKO 1:100).

Kết quả thu được trình bày ở bảng 5, hình 9, 10.

**Bảng 5. Kết quả chẩn đoán hoá mô miễn dịch của một số cơ quan chó bị mắc lymphoma**

Cơ quan	Khối u ở hạch lympho		Khối u ở gan		Khối u ở phổi		Khối u ở lách	
	KT CD3	KT CD19	KT CD3	KT CD19	KT CD3	KT CD19	KT CD3	KT CD19
C1	++	-	ND	ND	ND	ND	++	-
C2	+	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3	++	-	++	-	++	-	ND	ND
C4	+++	-	++	-	ND	-	+++	-
C5	+	-	++	-	+	ND	++	-

Chú thích: KT: kháng thể ND : Không kiểm tra

(-) : Âm tính

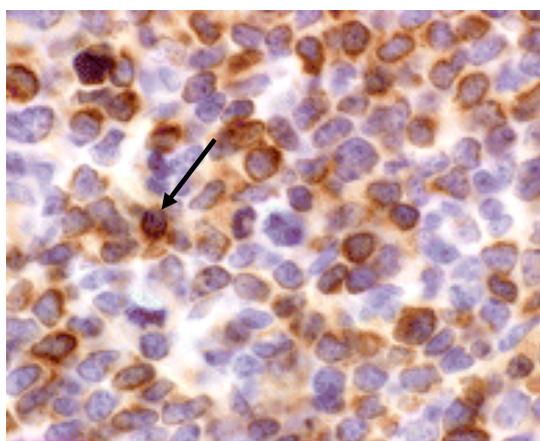
(+) : Dương tính mức độ I (Có các đám nâu vàng nhưng mức độ rải rác)

(++) : Dương tính mức độ II (Có các đám nâu vàng với mức độ trung bình)

(+++): Dương tính mức độ III (Có các đám rải rác với mức độ dày đặc)



**Hình 9. Lách dương tính với CD3 (kháng thể đặc hiệu để chẩn đoán khối u lymphoma có nguồn gốc từ tế bào lympho B (IHC + 100)**



**Hình 10. Hạch dương tính với CD3 (kháng thể đặc hiệu để chẩn đoán khối u lymphoma có nguồn gốc từ tế bào lympho B (IHC + 400)**

Các tế bào khối u đều dương tính với kháng thể CD3 và âm tính với kháng thể CD19 khi làm hóa mô miễn dịch. Như vậy, có thể khẳng định rằng các chó nghiên cứu đã được chẩn đoán là mắc khối u có nguồn gốc từ tế bào lympho B. Đây là khối u ác tính, đã có sự di căn đến các cơ quan như phổi, gan (Theo tài liệu phân loại khối u của WHO).

#### IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi góp phần khẳng định và làm rõ thêm các biến đổi bệnh lý của chó bị mắc khối u lympho. Bệnh thường gặp ở những giống chó ngoại nhập ở độ tuổi từ 7-10 tuổi (chó già). Dấu hiệu đầu tiên của chó mắc lymphoma là sốt nhẹ, giảm ăn, giảm cân nhiều trong thời gian ngắn, nôn mửa, tiêu chảy, phân lẫn máu thường xảy ra ở chó mắc lymphoma thể tiêu hoá, trên da xuất hiện các nốt mụn có mủ, các vẩy bám trên da, lông rụng thành từng mảng. Bệnh tích đại thể đặc trưng nhất là các hạch lympho sưng to. Trên các cơ quan mà khối u lympho di căn đến và phát triển thì có sự xuất hiện của các khối u cục với kích thước to, nhỏ khác nhau, màu trắng hơi vàng do sự tăng sinh quá mức của tế bào ung thư. Bệnh tích vi thể cho thấy tế bào lympho to nhỏ không đều, nhân có thể hình quái, không bình thường. Một số mạch quản có chứa tế bào khối u lympho trong lòng. Ngoài ra còn nhiều biến đổi bệnh lý trên nhiều cơ quan khác, phụ thuộc vào tình trạng

bệnh. Các tế bào khối u lympho dương tính với kháng thể CD3 khi làm phương pháp hóa mô miễn dịch. Như vậy, các chó nghiên cứu bị mắc lymphoma có nguồn gốc từ tế bào lympho B.

## . TÀI LIỆU THAM KHẢO

### . *Tài liệu trong nước*

1. Đái Duy Ban (2002), Lương thực, thực phẩm trong phòng chống ung thư, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
2. Khuất Hữu Thanh (2005), Liệu pháp gen, nguyên lý và ứng dụng, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật.

### **Tài liệu nước ngoài**

1. Bhang D, Choi U, Kim M, Choi E, Kang M, Hwang C, Kim D, Youn H, Lee C (2006), Epitheliotropic cutaneous lymphoma (*Mycosis fungoides*) in a dog, *Journal of Veterinary Science*.
2. Lowe A (2004), Alimentary lymphosarcoma in a 4-year-old Labrador retriever, *Can Vet J* 45.
3. Morrison, Wallace B.(2004), Lymphoma in dogs and cats, Williams and Wilkins.
4. Lucas, Pamela; Lacoste, Hugues; de Lorimier, Louis-Phillipe; Fan, Timothy M. (2007), Treating paraneoplastic hypercalcemia in dogs and cats, *Veterinary Medicine (Advanstar Communications)*.
5. Ogilvie, Gregory K. (2004), Canine lymphoma: Protocols For 2004, Proceedings of the 29th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association.