



**UNIVERSITE DE LIEGE  
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE  
DEPARTEMENT D'ENSEIGNEMENT ET DE CLINIQUE DES ANIMAUX DE COMPAGNIE  
DEPARTEMENT D'ENSEIGNEMENT ET DE CLINIQUE DES EQUIDES  
SERVICE D'IMAGERIE MEDICALE**

**LE SCANNER DE PERFUSION CHEZ LES CHIENS  
ATTEINTS DE TUMEURS DE LA TETE : APPLICATIONS CLINIQUES  
ET COMPARAISON AVEC LA DENSITE MICROVASCULAIRE**

**DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED COMPUTED TOMOGRAPHY IN  
DOGS WITH TUMOURS OF THE HEAD: CLINICAL APPLICATIONS  
AND COMPARISON WITH MICROVASCULAR DENSITY**

**Jeremy Raphaël Mortier**

**THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE  
DOCTORAT EN SCIENCES VETERINAIRES**

**ANNEE ACADEMIQUE 2023-2024**



## ***Remerciements***

**Je tiens tout d'abord à remercier ma superviseuse de thèse, Valeria, pour avoir cru en mon projet et m'avoir guidé durant toutes ces années. Merci de ta disponibilité, de ta bonne humeur et de ta gentillesse.**

**Je tiens également à remercier les membres de mon comité de thèse Tom, Géraldine et Annick pour leur aide précieuse dans l'amélioration du manuscrit. Merci de m'avoir toujours poussé vers l'avant et pour vos critiques constructives.**

**Un grand merci aux acteurs du recrutement des cas : les clinicien.nes, infirmier.es et secrétaires du Small Animal Teaching Hospital de l'Université de Liverpool, en particulier les services d'oncologie, de radiothérapie, de médecine et d'imagerie médicale.**

**Merci enfin aux membres du jury d'avoir pris le temps de lire et de juger mon travail, et ce en toute bienveillance.**

**D'un point de vue plus personnel, je tiens à remercier mes amis et ma famille pour le soutien psychologique qu'ils m'ont apporté, et dont j'ai eu grand besoin ces dernières années. Vous êtes mes piliers.**

## *Abréviations*

**2D** : bidimensional (bidimensionnel)  
**3DCRT** : tridimensional conformal radiation therapy (radiothérapie conformationnelle tridimensionnelle)  
**AA** : acanthomatous ameloblastoma (améloblastome acanthomateux)  
**AIF** : arterial input fonction  
**AINS** : anti-inflammatoires non-stéroïdiens  
**ATH** : adiabatic approximation of the tissue homogeneity  
**BF** : blood flow (débit sanguin)  
**BV** : blood volume (volume sanguin)  
**CBV** : cerebral blood volume (volume sanguine cérébral)  
**COX-2** : cyclo-oxygenase-2  
**CT** : computed tomography (scanner)  
**CVA** : cerebral vascular accident (accident cérébral vasculaire)  
**DAB** : 3,3'-Diaminobenzidine  
**DCECT** : dynamic contrast-enhanced computed tomography (scanner de perfusion)  
**DMV** : densité microvasculaire  
**DTI** : diffusion tensor imaging (imagerie du tenseur de diffusion)  
**DWI** : diffusion-weighted imaging (imagerie en pondération de diffusion)  
**FEA** : fonction d'entrée artérielle  
**FS** : fibrosarcoma (fibrosarcome)  
**GTV** : gross tumour volume (volume tumoral macroscopique)  
**IMRT** : intensity-modulated radiation therapy (radiothérapie par modulation d'intensité)  
**IQR** : interquartile ranges  
**IRM** : imagerie par résonance magnétique  
**KCS** : kératoconjunctivite sèche  
**Linac** : linear accelerator (accélérateur linéaire de particules)  
**MLC** : multileaf collimator (collimateur multilames)  
**MM** : melanoma (mélanome)  
**MTT** : mean transit time (temps moyen de transit)  
**MUA** : meningoencephalitis of unknown aetiology (méningoencéphalite d'étiologie inconnue)  
**MWF** : Monday – Wednesday – Friday (lundi – mercredi – vendredi)  
**NSAID** : non-steroidal anti-inflammatory drugs  
**OAR** : organs à risque  
**OS** : osteosarcoma (ostéosarcome)  
**PctAreaBVstrom** : percentage area of blood vessels in stroma  
**PctAreaBVtum** : percentage area of blood vessels in tumoral tissue  
**PctBVstrom** : percentage detection of blood vessels in stroma  
**PctBVtum** : percentage detection of blood vessels in tumoral tissue  
**PDH** : pituitary-dependant hyperadrenocorticism (hyperadrénocorticisme d'origine pituitaire)  
**PDT** : photodynamic therapy (thérapie photodynamique)  
**PS** : permeability surface area product (prodiot perméabilité-surface)  
**PWI** : perfusion-weighted imaging (imagerie en pondération de perfusion)  
**RA(V)NO** : response assessment in (veterinary) neuro-oncology (évaluation de la réponse au traitement en neuro-oncologie)  
**RECIST** : response evaluation critaeria in solid tumours (critères d'évaluation de la réponse pour les tumeurs solides)  
**ROI** : region of interest (région d'intérêt)

**RT : radiation therapy (radiothérapie)**

**SATH : small animal teaching hospital**

**SCC : squamous cell carcinoma (carcinome à cellules squameuses)**

**SNC : système nerveux central**

**SRS : stereotactic radiosurgery (radiochirurgie stéréotactique)**

**SRT : stereotactic radiation therapy (radiothérapie stéréotactique)**

**TMS : temps/durée médian(ne) de survie**

**TT : transit time (temps de transit)**

**VEGF : vascular endothelial growth factor (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire)**

**VIP : vacuum infiltration processor**

**WHO : World Health Organization**



## **TABLE DES MATIERES**

<b>Résumé – Abstract .....</b>	<b>1</b>
<b>Préambule général .....</b>	<b>6</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>8</b>
<b>1. Les tumeurs de la tête chez le chien .....</b>	<b>8</b>
1.1. Les tumeurs nasales du chien .....	8
1.1.1.Introduction sur les tumeurs nasales du chien .....	8
1.1.2.La radiothérapie dans le traitement des tumeurs nasales du chien .....	11
1.1.3.La chirurgie dans le traitement des tumeurs nasales du chien.....	22
1.1.4.La chimiothérapie et les autres thérapies médicales dans le traitement des tumeurs nasales du chien .....	23
1.2. Les tumeurs intracrâniennes du chien .....	26
1.2.1.Introduction sur les tumeurs intracrâniennes du chien .....	26
1.2.2.La radiothérapie dans le traitement des tumeurs intracrâniennes du chien .....	33
1.2.3.La chirurgie dans le traitement des tumeurs intracrâniennes du chien.....	38
1.2.4.La chimiothérapie et les autres thérapies médicales dans le traitement des tumeurs intracrâniennes du chien .....	39
1.3. Les tumeurs oro-faciales du chien .....	39
1.3.1.Introduction sur les tumeurs oro-faciales du chien.....	39
1.3.2.La radiothérapie dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien.....	44
1.3.3.La chirurgie dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien .....	47
1.3.4.La chimiothérapie et la vaccination thérapeutique dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien .....	49
<b>2. Place de l'imagerie en coupe dans l'évaluation de la réponse au traitement et le suivi des tumeurs de la tête chez le chien .....</b>	<b>50</b>
<b>3. Perfusion tumorale, radiothérapie et imagerie médicale.....</b>	<b>52</b>
3.1. Implications cliniques de la vascularisation et de la perfusion tumorales.....	52
3.2. Corrélation entre vascularisation tumorale et scanner de perfusion.....	56
<b>4. Le scanner de perfusion .....</b>	<b>56</b>
4.1. Principes physiques, technique d'acquisition et d'analyse de perfusion.....	56

---

4.2. Applications du scanner de perfusion en oncologie humaine .....	60
4.3. Utilisation du scanner de perfusion en médecine vétérinaire .....	62
<b>Objectifs .....</b>	<b>64</b>
<b>Section expérimentale .....</b>	<b>67</b>
<b>Etude 1 : Le scanner de perfusion chez les chiens atteints de tumeurs sinonasales .....</b>	<b>68</b>
<b>Etude 2 : Les paramètres dérivés du scanner de perfusion, initiaux et durant la radiothérapie, des tumeurs cérébrales canines suspectées, pourraient être différents selon la localisation de la tumeur, mais ne sont pas associés à la survie. ....</b>	<b>81</b>
<b>Etude 3 : Résultats de scanner de perfusion chez 13 chiens atteints de tumeurs orofaciales .....</b>	<b>94</b>
<b>Etude 4 : Évaluation et corrélation des paramètres du scanner de perfusion et de la densité microvasculaire en tant qu'indicateurs pronostiques chez les chiens atteints de tumeurs de la tête .....</b>	<b>105</b>
<b>Discussion – perspectives .....</b>	<b>125</b>
<b>Références .....</b>	<b>138</b>

---

# Résumé - Abstract

---

*Le traitement des tumeurs nasales, oro-faciales et cérébrales chez le chien est associé à une morbidité élevée et il n'existe pas de facteurs pronostiques fiables. Par ailleurs, le microenvironnement tumoral, en particulier la densité microvasculaire (DMV), modifie la réponse au traitement et le pronostic. Les paramètres de perfusion dérivés du scanner de perfusion (DCECT) ont été corrélés à la DMV et à la réponse au traitement en oncologie humaine. Les objectifs de cette étude étaient : (a) de comparer les paramètres de perfusion initiaux avec le type histologique chez les chiens atteints de tumeurs nasales et oro-faciales, et avec la localisation de la masse chez les chiens présentant une masse intracrânienne, (b) de décrire les modifications des paramètres de perfusion et du volume tumoral après 12 Gy de radiothérapie (RT) mégavoltage et de les comparer au type histologique (pour les tumeurs nasales) et à la localisation de la masse (pour les masses intracrâniennes), (c) de comparer les paramètres de perfusion et la DMV dans un groupe de chiens atteints de tumeurs de la tête (tumeurs nasales et oro-faciales), (d) d'évaluer s'il existe une corrélation entre les paramètres de perfusion initiaux, les modifications de ces paramètres de perfusion et du volume des tumeurs en cours de RT (tumeurs nasales et masses intracrâniennes), et la DMV (tumeurs nasales et oro-faciales) avec le temps de survie.*

*La première hypothèse était que les carcinomes et les sarcomes des cavités nasales d'une part, et les masses intracrâniennes selon leur localisation d'autre part, présenteraient des paramètres de perfusion différents. La deuxième hypothèse était que les modifications de ces paramètres et du volume tumoral pendant la RT seraient différentes selon le type tumoral (tumeurs nasales) et la localisation de la masse (masses intracrâniennes), et corrélées avec le temps de survie. La troisième hypothèse était qu'il y aurait une corrélation positive entre les paramètres de perfusion et la DMV, et enfin la dernière hypothèse était que les paramètres de perfusion et la DMV seraient corrélés avec le temps de survie et que les tumeurs épithéliales et mésenchymateuses auraient une DMV différents.*

*Vingt-quatre chiens présentant une tumeur nasale, 17 chiens présentant une masse intracrânienne, et 11 chiens présentant une tumeur oro-faciale ont été recrutés prospectivement. Tous les chiens ont subi un DCECT initial pour évaluer le volume sanguin (BV), le débit sanguin (BF) et le temps de transit (TT). Treize des chiens présentant une tumeur nasale, 12 des chiens avec une masse intracrânienne et 5 des chiens avec une tumeur oro-faciale ont subi un DCECT de contrôle après 12 Gy de RT mégavoltage (6 MV), 7 jours après le début du traitement. La DMV a été évaluée au sein du stroma tumoral et du tissu tumoral de 25 échantillons de tumeurs nasales et oro-faciales. Les temps de survie ont été calculés.*

*Concernant les tumeurs nasales, les sarcomes avaient un BF significativement plus bas que les adénocarcinomes ( $P = 0,002$ ), les carcinomes ( $P = 0,01$ ), et les autres carcinomes ( $P = 0,001$ ), et un BV significativement plus bas que les adénocarcinomes ( $P = 0,03$ ) et les autres carcinomes ( $P = 0,004$ ). Des différences significatives ont été observées entre les tumeurs épithéliales (regroupant les adénocarcinomes, les carcinomes et les autres carcinomes) et les sarcomes pour le changement de volume ( $P = 0,01$ ), de largeur ( $P = 0,004$ ), et de longueur ( $P = 0,02$ ) de la tumeur durant la RT, dans la mesure où les tumeurs épithéliales ont diminué de volume alors que les sarcomes ont augmenté de*

volume. Les paramètres de perfusion initiaux et les modifications de ces paramètres et du volume tumoral pendant la RT n'étaient pas corrélés à la durée de survie.

Concernant les masses intracrâniennes, les masses intra-axiales avaient un BF ( $P=0,005$ ) et un BV ( $P<0,001$ ) plus faibles que les masses extra-axiales, mais pas que les masses hypophysaires. Les masses hypophysaires avaient un BF ( $P=0,001$ ) et un BV ( $P=0,004$ ) plus faibles que les masses extra-axiales. Le volume de la masse était positivement associé au TT ( $P=0,001$ ) mais pas au BF et au BV. Les masses intra-axiales ont montré une diminution de taille plus marquée que les masses extra-axiales et hypophysaires pendant la RT ( $P=0,022$  pour la longueur,  $P=0,05$  pour la hauteur). Les masses extra-axiales ont montré une diminution plus importante du BF ( $P=0,011$ ) et du BV ( $P=0,012$ ) pendant la RT que les masses hypophysaires et les masses intra-axiales. Les chiens les plus lourds ont présenté un temps de survie plus court ( $P=0,011$ ). Les paramètres de perfusion initiaux et les modifications de ces paramètres et du volume tumoral n'étaient pas corrélés au temps de survie.

En ce qui concerne les tumeurs oro-faciales, le BV et le BF des carcinomes à cellules squameuses étaient plus élevés que ceux des sarcomes, bien qu'aucune analyse statistique n'ait été effectuée pour confirmer ces résultats. Lors du DCECT de contrôle, 4 chiens ont montré une réduction de la taille de leur tumeur pendant la RT. Parmi ces chiens, 3 ont montré une augmentation du BV et du BF et 1 une diminution de ces paramètres entre le DCECT initial et le DCECT de suivi. Le seul chien dont la taille de la tumeur a augmenté entre le premier et le second DCECT a également présenté une diminution du BV et du BF tumoral.

Dans notre population de chiens dont la DMV des tumeurs a été déterminée, les tumeurs mésoenchymateuses avaient un BV ( $P=0,008$ ) et un BF ( $P=0,003$ ) plus faibles que les tumeurs épithéliales. Les tumeurs mésoenchymateuses présentaient un pourcentage d'aire de vaisseaux sanguins au sein du tissu tumoral significativement plus élevé que les tumeurs épithéliales ( $P=0,04$ ). Il n'y avait pas d'association significative entre les paramètres de perfusion et les mesures de la DMV. Le TT initial était positivement corrélé au temps de survie. Les autres paramètres de perfusion, les modifications des paramètres de perfusion entre le DCECT initial et le DCECT de contrôle, et la DMV n'étaient pas associés au temps de survie.

En conclusion, les sarcomes ont des BV et BF plus faibles que les carcinomes. A contrario, la DMV des carcinomes était plus faible que celle des sarcomes. Les paramètres de perfusion étaient plus élevés pour les masses extra-axiales que pour les masses intra-axiales. Au sein de la population de chiens dont la DMV des tumeurs a été déterminée, le TT initial était positivement corrélé au temps de survie, mais pas la DMV. Les modifications des paramètres de perfusion au cours de la RT n'étaient pas corrélées au temps de survie dans aucune des populations de chiens. Nos résultats s'ajoutent à la paucité des connaissances actuelles sur l'imagerie fonctionnelle des tumeurs chez le chien, et ouvrent la voie à une meilleure compréhension de la vascularisation et de la perfusion des tumeurs canines et de leurs implications sur le pronostic.

## ***Abstract***

*Treatment of nasal, orofacial and brain tumours in dogs is associated with significant morbidity and there are no reliable prognostic factors. Furthermore, the tumour microenvironment, in particular microvascular density (MVD), affects response to treatment and prognosis. Perfusion parameters derived from dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) have been correlated with MVD and treatment response in human oncology. The objectives of this study were (a) to evaluate initial perfusion parameters in dogs with nasal and orofacial tumours according to histopathological type, and in dogs with intracranial masses according to mass location, (b) to characterise changes in perfusion parameters and changes in tumour size after 12 Gy of megavoltage RT (6 MV), (c) to compare perfusion parameters derived from DCECT and MVD in a group of dogs with tumours of the head (nasal and orofacial tumours), (d) to search for potential correlations between initial perfusion parameters, changes in these perfusion parameters and tumour size during RT (nasal tumours and intracranial masses), and MVD (nasal and orofacial tumours) with survival time.*

*Our first hypothesis was that carcinomas and sarcomas on one hand, and intracranial masses depending on their location on the other hand, would have different perfusion parameters. Our second hypothesis was that changes in these parameters and in tumour volume during radiotherapy would be different depending on tumour type (nasal tumours) and localization (intracranial masses), and correlated with survival. Our third hypothesis was that there would be a positive correlation between perfusion parameters and MVD, and our last hypothesis was that perfusion parameters and MVD would be correlated with survival, and that epithelial and mesenchymal tumours would have different perfusion parameters and MVD.*

*Twenty-four dogs with nasal tumours, 17 dogs with intracranial masses, and 11 dogs with orofacial tumours were prospectively recruited. All dogs underwent an initial DCECT to assess blood volume (BV), blood flow (BF) and transit time (TT). Thirteen of the dogs with nasal tumours, 12 of the dogs with intracranial masses and 5 of the dogs with orofacial tumours underwent a second DCECT after 12 Gy of megavoltage RT, 7 days after starting RT. Microvascular density (anti-factor VIII) was assessed using a trained object classifier within the tumour stroma and tumour tissue of 25 of the nasal and orofacial tumours. Survival times were calculated.*

*For nasal tumours, sarcomas had a significantly lower BF than adenocarcinomas ( $P = 0.002$ ), carcinomas ( $P = 0.01$ ), and other carcinomas ( $P = 0.001$ ), and a significantly lower BV than adenocarcinomas ( $P = 0.03$ ) and other carcinomas ( $P = 0.004$ ). Significant differences were found between epithelial tumours (as a single group) and sarcomas regarding change in tumour volume ( $P = 0.01$ ), width ( $P = 0.004$ ), and length ( $P = 0.02$ ) during RT, in that epithelial tumours decreased in volume while sarcomas increased in volume. Perfusion parameters (initial and repeat) and change in volume were not correlated with survival time.*

Regarding intracranial masses, intra-axial masses had a lower BF ( $P=0.005$ ) and BV ( $P<0.001$ ) than extra-axial masses, but not than pituitary masses. Pituitary masses had lower BF ( $P=0.001$ ) and BV ( $P=0.004$ ) than extra-axial masses. Mass volume was positively associated with TT ( $P=0.001$ ) but not with BF and BV. Intra-axial masses showed a greater decrease in size than extra-axial and pituitary masses during RT ( $P=0.022$  for length,  $P=0.05$  for height). Extra-axial masses showed a greater decrease in BF ( $P=0.011$ ) and BV ( $P=0.012$ ) during RT than pituitary and intra-axial masses. The heaviest dogs had a shorter survival time ( $P=0.011$ ). Perfusion parameters (initial and repeat) and change in volume were not correlated with survival time.

For orofacial tumours, the BV and BF of squamous cell carcinomas were higher than those of sarcomas, although no statistical analysis was performed to confirm these results. In the control DCECT, 4 dogs showed a reduction in tumour size during RT. Of these dogs, 3 showed an increase in BV and BF and 1 a decrease in these parameters between initial and follow-up DCECT. The only dog whose tumour size increased between the first and second DCECT also showed a decrease in tumour BV and BF.

In our population that had MVD determined, mesenchymal tumours had lower BV ( $P=0.008$ ) and BF ( $P=0.003$ ) than epithelial tumours. Mesenchymal tumours had a significantly higher percentage area of blood vessels within the tumour tissue than epithelial tumours ( $P=0.04$ ). There was no significant association between perfusion parameters and MVD measurements. Initial TT was positively correlated with survival time. Other perfusion parameters, changes in perfusion parameters between initial and control DCECT, and VDD were not associated with survival time.

In conclusion, sarcomas had lower BV and BF than carcinomas, and nasal sarcomas had a smaller reduction in size than nasal carcinomas at the start of RT. Conversely, the MVD of carcinomas was lower than that of sarcomas. Perfusion parameters of extra-axial masses were higher than that of intra-axial masses, and decrease in mass size during RT was greater in extra-axial masses than in extra-axial and pituitary masses. In the population of dogs in which the MVD of the tumours was determined (nasal and orofacial tumours), initial TT was positively correlated with survival time, but MVD was not. Changes in perfusion parameters during RT were not correlated with survival time in any dog population. Our results add to the paucity of knowledge on functional imaging of tumours in dogs and pave the way for a better understanding of the vascularisation and perfusion of canine tumours, and their implications for prognosis.

---

# Préambule général

---

Les tumeurs de la tête chez les chiens sont extrêmement variées en termes de localisation, type histologique, signes cliniques associés, pronostic et traitement. Cependant, nombre de ces tumeurs ont en commun le défi thérapeutique qu'elles représentent. En effet, la densité de structures vitales et la complexité anatomique de la tête compliquent voire empêchent une exérèse chirurgicale complète (Cray *et al.* 2021, Van Der Steen & Zandvliet 2021). De plus, les interventions chirurgicales mises en œuvre sont souvent délabrantes et associées à une forte morbidité (MacLellan *et al.* 2018). De ce fait, la radiothérapie (RT) est souvent utilisée dans le traitement de ces tumeurs, seule ou combinée à une exérèse chirurgicale (Kawabe *et al.* 2015, Keyerleber *et al.* 2015, Gardner *et al.* 2015, Mortier & Blackwood 2020). La RT est relativement lourde pour le propriétaire, peu accessible, et nécessite un matériel et des compétences importantes pour les vétérinaires. Elle peut être également associée à des effets secondaires non négligeables en fonction de la technique employée et de la localisation de la tumeur (Wolf *et al.* 2020, Mortier & Blackwood 2020). Enfin, la réponse à la RT est extrêmement variable en fonction du type de tumeur mais aussi d'un individu à l'autre. Les facteurs pronostiques en oncologie vétérinaire sont encore à ce jour majoritairement basés sur les caractéristiques histologiques des tumeurs (Morgan *et al.* 2018), la présence de métastases (Turek *et al.* 2020), mais également sur des critères morphologiques observés avec l'aide de l'imagerie médicale, en particulier l'examen scanner (CT) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) (Adams *et al.* 2009). Les critères d'évaluation de la réponse au traitement, quant à eux, sont exclusivement basés sur l'évolution de la taille de la tumeur et le bilan d'extension, évalués en imagerie, par des méthodes telles que les « response evaluation criteria in solid tumors » (RECIST). En oncologie humaine, l'imagerie fonctionnelle représente une voie d'intérêt grandissant pour affiner le pronostic, évaluer la réponse au traitement, mais aussi pour détecter les récurrences locales et les métastases (Bisdas *et al.* 2007, Trojanowska *et al.* 2012, Trojanowska *et al.* 2012bis, Maarouf *et al.* 2015, Sun *et al.* 2015, Wang *et al.* 2016, Chen *et al.* 2017). Parmi les multiples techniques d'imagerie fonctionnelle, le DCECT est de plus en plus utilisé pour les tumeurs de la tête et du cou, en particulier pour les tumeurs cérébrales et les carcinomes à cellules squameuses (Razek *et al.* 2014, Yeung *et al.* 2015, Yeung *et al.* 2015bis). L'imagerie fonctionnelle en général, et le DCECT en particulier, n'a à ce jour été que peu étudié en médecine vétérinaire. Il pourrait cependant représenter un outil d'aide au diagnostic des tumeurs peu accessibles au prélèvement, mais également un outil pronostique et d'évaluation de la réponse au traitement de RT ou de chimiothérapie.

---

# Introduction

---

## 1. Les tumeurs de la tête chez le chien

### 1.1 Les tumeurs nasales du chien

#### 1.1.1 Introduction sur les tumeurs nasales du chien

Les tumeurs des cavités nasales et paranasales sont relativement fréquentes chez les chiens, représentant environ 1 à 2 % de tous les cancers (Madewell *et al.* 1976) et 70 % des maladies nasales chroniques chez cette espèce (Finck *et al.*, 2015). Les autres causes de maladies nasales chroniques comprennent la rhinite fongique (aspergillose), la rhinite chronique (une affection inflammatoire/allergique) et les corps étrangers. Deux tiers des tumeurs nasales sont des carcinomes, le plus souvent des adénocarcinomes, bien que des carcinomes à cellules squameuses, des carcinomes indifférenciés et des carcinomes transitionnels soient également décrits. Un tiers sont des sarcomes, le plus souvent des chondrosarcomes, mais aussi des fibrosarcomes, des ostéosarcomes et des sarcomes indifférenciés/anaplasiques (Buchholz *et al.* 2009 ; Mason *et al.* 2013 ; Sones *et al.* 2013, Kubicek *et al.* 2016). Le lymphome extranodal peut également affecter les cavités nasales et, rarement, d'autres tumeurs telles que le mélanome, le mastocytome, l'angiofibrome et l'esthésioneuroblastome (Burgess *et al.* 2011, George *et al.* 2016, Davies *et al.* 2017, Gumpel *et al.* 2017).

Les chiens de races dolichocéphales sont principalement touchés, en particulier le golden retriever, le labrador, le berger allemand et l'épagneul anglais (Mellanby *et al.* 2002, Yoon *et al.* 2008). Cependant, toutes les races peuvent être touchées. Il n'y a pas de prédisposition de sexe bien établie, bien que quelques études aient suggéré une légère prédominance chez le mâle (Correa *et al.* 2003). L'âge moyen et médian des chiens au moment du diagnostic est de 10 ans, mais des chiens de tous âges peuvent être touchés, et des tumeurs nasales ont été rapportées chez des chiens âgés d'un an seulement (Sones *et al.* 2013). L'étiologie est inconnue, bien qu'une étude ait établi un lien entre les polluants, en particulier la fumée de cigarette, et les tumeurs nasales chez les chiens (Reif *et al.* 1998).

Les signes cliniques fréquemment observés comprennent de l'épistaxis, des écoulements nasaux, des étternuements, du stertor ou des signes d'obstruction nasale, de l'épiphora, de la congestion nasale et de la dyspnée (Avner *et al.* 2008, Mason *et al.* 2013, Finck *et al.* 2014). Les signes cliniques peuvent évoluer d'unilatéraux à bilatéraux. Les animaux présentant un stade avancé de la maladie peuvent également présenter une déformation faciale, une exophtalmie et des signes neurologiques tels que des crises convulsives et des changements de comportement (Northrup *et al.* 2001, Weeden & Degner 2016). La plupart des maladies nasales partagent des signes cliniques similaires, et des examens complémentaires sont souvent nécessaires à l'obtention d'un diagnostic définitif, bien que l'anamnèse et les signes cliniques puissent déjà orienter le diagnostic (Tableau 1) (Ladue *et al.* 1999, Russo *et al.* 1999, Avner *et al.* 2008, Gieger *et al.* 2008, Lux *et al.* 2017). Historiquement, la radiographie des cavités nasales était la modalité d'imagerie diagnostique de choix et était également utilisée pour la planification

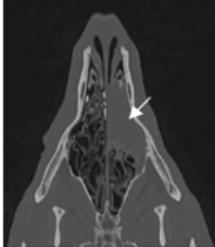
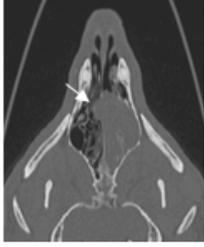
de la RT, mais elle a été largement remplacée par le CT ou l'IRM (Gieger *et al.* 2008, Agthe *et al.* 2009, Drees *et al.* 2009, Cohn 2014, Lux *et al.* 2017).

Les caractéristiques radiographiques, CT et IRM des tumeurs nasales ont été largement décrites dans la littérature et sont résumées dans le Tableau 1 (Gibbs *et al.* 1979, Sullivan *et al.* 1987, Thrall *et al.* 1989, Morris *et al.* 1996, Adams *et al.* 1998, Russo *et al.* 1999, Saunders *et al.* 2003, Lefebvre *et al.* 2005, Rassnick *et al.* 2006, Avner *et al.* 2008, Kondo *et al.* 2008, Meler *et al.* 2008, Miles *et al.* 2008, Buchholz *et al.* 2009, Drees *et al.* 2009, Lux *et al.* 2017, Jania *et al.* 2019). Le CT est supérieur à la radiographie pour le diagnostic et la stadification, et est nécessaire pour la planification de la RT dans la plupart des centres. L'IRM est la plus sensible pour identifier une atteinte cérébrale (Drees *et al.* 2009). Les résultats d'imagerie ne permettent pas de différencier les types de tumeurs nasales, bien que le chondrosarcome nasal puisse présenter des caractéristiques d'imagerie plus spécifiques (Jania *et al.* 2019). Par conséquent, des biopsies nasales guidées par rhinoscopie ou à l'aveugle sont utilisées pour obtenir un diagnostic histologique. Deux à trois prélèvements sont souvent nécessaires pour obtenir un échantillon diagnostique, car les tumeurs volumineuses contiennent souvent des zones nécrotiques et/ou inflammatoires (Harris *et al.* 2014).

Anamnèse classique	Signes cliniques classiques	Anomalies radiographiques classiques	Anomalies CT classiques	Anomalies IRM classiques
<b>Chiens âgés</b>	Stertor	Augmentation de l'opacité des tissus mous dans l'ensemble de la cavité nasale (souvent plus marquée en région caudale) avec perte des cornets nasaux.	Masse d'atténuation tissulaire avec prise de contraste modérée à forte et lyse des cornets nasaux. Minéralisation en "popcorn" lors de chondrosarcome.	Masse hyperintense (au muscle) en T2w et T1w au sein de la cavité nasale avec prise de contraste légère à modérée et lyse des cornets nasaux.
<b>Signes cliniques chroniques et progressifs, unilatéraux pouvant devenir bilatéraux</b>	Écoulement nasal mucoïde, mucopurulent ou hémorragique, unilatéral (puis bilatéral)  Obstruction des voies nasales  Déformité/asymétrie faciale  Éternuements  Épistaxis  Exophtalmie  Crises convulsives, signes neurologiques	Lyse des os de la face et/ou de la lame criblée de l'ethmoïde  Opacité tissulaire dans le sinus frontal ipsilatéral  Envahissement de la cavité nasale controlatérale, du nasopharynx et/ou de l'espace rétrobulbaire.	Lyse des os de la face et/ou de la lame criblée de l'ethmoïde  Accumulation de liquide dans la cavité nasale et le sinus frontal  Envahissement de la cavité nasale controlatérale, du nasopharynx, de l'espace rétrobulbaire, de la cavité crânienne et/ou du tissu sous-cutané.	Lyse des os de la face et/ou de la lame criblée de l'ethmoïde  Accumulation de liquide dans la cavité nasale et le sinus frontal  Envahissement de la cavité nasale controlatérale, du nasopharynx, de l'espace rétrobulbaire, de la cavité crânienne et/ou du tissu sous-cutané.

**Tableau 1 :** Anamnèse, signes cliniques et anomalies en imagerie classiquement associés aux tumeurs nasales du chien. IRM : imagerie par résonance magnétique, CT : computed tomography (scanner)

La relation entre le stade de la tumeur et le pronostic est controversée, au moins en partie en raison des différences de méthode et des résultats contradictoires des études publiées (Gibbs *et al.* 1979, Morris *et al.* 1996, Henry *et al.* 1998, Mason *et al.* 2013, Mayer *et al.* 2019). La plupart des études ont mis en évidence une association entre le stade CT au moment de la présentation de l'animal et le temps de survie, avec des résultats moins favorables en cas d'atteinte de la lame criblée ou d'infiltration néoplasique du cerveau (Kondo *et al.* 2008, Adams *et al.* 2009, Mason *et al.* 2013, Mayer *et al.* 2019, Woodruff *et al.* 2019, Nolan *et al.* 2022). De même, la présence de métastases lymphatiques et pulmonaires a été variablement associée au pronostic dans la littérature (Gibbs *et al.* 1979, Langova *et al.* 2004, Kubicek *et al.* 2016, Nolan *et al.* 2022). Il est désormais largement admis que des stades plus avancés en CT sont associés à un pronostic défavorable. Le système de stadification par CT le plus couramment utilisé est présenté en figure 1 (Adams *et al.* 2009). La présence d'une déformation faciale, d'une dyspnée, d'un épistaxis et l'absence d'amélioration des signes cliniques après la RT ont également été associées à un pronostic négatif, mais de manière non répétable entre les études (Ladue *et al.* 1999, Northrup *et al.* 2001, Gieger *et al.* 2008).

Stade CT	T1	T2	T3	T4
<b>Description</b>	Tumeur confinée à une cavité nasale et absence de lyse osseuse en dehors des cornets nasaux	Toutes lésion osseuse au-delà des cornets nasaux, en l'absence d'envahissement orbitaire, sous-cutané, nasopharyngé ou sous-muqueux	Envahissement orbitaire, sous-cutané, sous-muqueux ou nasopharyngé	Lyse de la lame criblée de l'ethmoïde
<b>Exemple</b>	 Tumeur confinée à une cavité nasale	 Extension tumorale au travers du septum nasal	 Extension tumorale en région sous-cutanée, au travers de l'os maxillaire	 Lyse de la lame criblée de l'ethmoïde

**Figure 1** : Classification des stades CT des tumeurs nasales du chien selon Adams et al., 2009 et exemples.

La relation entre le diagnostic histologique et le pronostic est également douteuse. La plupart des études n'ont pas démontré de différence de pronostic entre les types de tumeurs lorsqu'elles sont traitées par RT, bien que les cohortes soient généralement de petite taille et que les études manquent de puissance pour détecter des différences subtiles (Adams *et al.* 1998, Mellanby *et al.* 2002, Kondo *et al.* 2008, Lawrence *et al.* 2010). Les sarcomes, en particulier les chondrosarcomes, traités par RT ont été associés à un meilleur pronostic que les carcinomes (Sones *et al.* 2013, Glasser *et al.* 2014) ou l'inverse (Nolan *et al.* 2022), tandis que l'ostéosarcome a été associé à un mauvais pronostic dans une étude (Kubicek *et al.* 2016). À l'inverse, il a été décrit que les sarcomes présentaient une réduction de volume plus faible après la RT que les carcinomes, tandis que leurs durées médianes de survie étaient similaires lorsque la RT était suivie d'une chirurgie (Morgan *et al.* 2018). Les carcinomes autres que les adénocarcinomes (carcinomes à cellules squameuses et indifférenciés/anaplasiques) ont été associés à un pronostic défavorable (Gibbs *et al.* 1979, Woodruff *et al.* 2019, Nolan *et al.* 2022).

De nombreux traitements différents ont été utilisés pour tenter de guérir ou d'améliorer temporairement la qualité de vie des chiens atteints de tumeurs nasales. La plupart des thérapies se concentrent sur le traitement de l'infiltration locale. Historiquement, la rhinotomie avec excision de la tumeur était le seul traitement disponible. Depuis les années 1990 (Lana *et al.* 2004), la RT est devenue le traitement de référence. Différents agents chimiothérapeutiques ont également été utilisés, soit en monothérapie, soit en association avec d'autres médicaments, ou en combinaison avec la chirurgie ou la RT, souvent avec des résultats décevants (Laing & Binnington 1988, Langova *et al.* 2004, De Vos *et al.* 2012, London *et al.* 2012, Woodruff *et al.* 2019). Parmi les traitements moins fréquemment rapportés figurent la cryothérapie, l'électrochimiothérapie ou la thérapie photodynamique (PDT) (Lucroy *et al.* 2003, Murphy *et al.* 2011, Suzuki *et al.* 2017).

### 1.1.2 La radiothérapie dans le traitement des tumeurs nasales du chien

Chez l'homme, la RT est la base du traitement du cancer du nasopharynx (The Royal College of Radiologists 2016). Les protocoles standards pour le carcinome nasopharyngé délivrent une dose totale de 65 à 70 Gy, fractionnée quotidiennement sur 6 à 7 semaines, mais le traitement par RT hyperfractionnée (deux fois par jour ou plus) a été associé à un meilleur résultat (Baujat *et al.* 2010). La dose totale administrée s'est également avérée être significativement associée au pronostic dans une analyse multivariée et une dose totale supérieure ou égale à 70 Gy a été associée à un meilleur résultat (Wang 1989, Ali & Alsarraf 2000). Cependant, cela ne peut pas être extrapolé directement aux chiens car les tumeurs ont une histogenèse différente. De plus, la nécessité d'une anesthésie générale et les coûts liés à la RT chez le chien limitent le fractionnement.

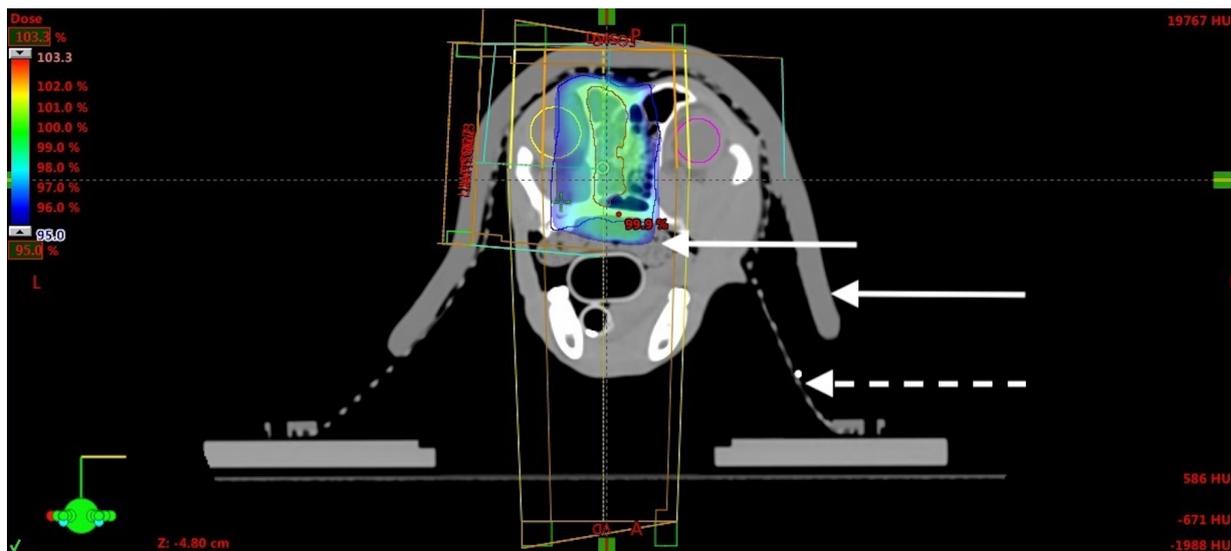
La toxicité des rayonnements ionisants est l'un des principaux inconvénients de la RT, et tous les protocoles de RT ont été associés à une toxicité précoce (moins de 3 mois après le traitement) et tardive (plus de 3 mois après le traitement) (Thrall *et al.* 1993, Gieger *et al.* 2008, Belshaw *et al.* 2011, Fujiwara

*et al.* 2013, Sones *et al.* 2013, George *et al.* 2016), bien que cette toxicité ait été évaluée de manière variable dans la littérature vétérinaire, et que la plupart des données proviennent d'études rétrospectives. La classification des événements indésirables a été décrite par le Veterinary Radiation Therapy Oncology Group (Tableau 2) (Ladue & Klein 2001). En bref, la radiotoxicité la plus courante implique la peau, les yeux, les muqueuses oculaires et buccales et, plus rarement, le cerveau (Lawrence *et al.* 2010, Yoshikawa *et al.* 2023). Les toxicités précoces comprennent la mucosite, l'érythème, la desquamation, la conjonctivite et l'ulcération oculaire ; les toxicités tardives comprennent l'alopécie, la fibrose de la peau et des tissus mous, la leucotrichie, la kératoconjonctivite sèche, l'uvéite et les modifications du cristallin (Yoshikawa *et al.* 2023). Une nécrose ischémique des os ou du cerveau est possible mais peu fréquente avec une planification adéquate (Northrup *et al.* 2001, Fox-Alvarez *et al.* 2020).

<b>Organe/Tissu</b>	<b>Grade 0</b>	<b>Grade 1</b>	<b>Grade 2</b>	<b>Grade 3</b>
<b>Œil (aigu)</b>	Absence de modification	Conjonctivite discrète, pétéchies sclérales	KCS nécessitant des larmes artificielles, conjonctivite modérée ou iritis nécessitant un traitement	Kératite sévère avec ulcération de la cornée et/ou perte de vision, glaucome
<b>Œil (tardif)</b>	Absence de modification	Cataracte asymptomatique, KCS	Cataractes symptomatiques, kératite, ulcération de la cornée, rétinopathie mineure, glaucome léger et modéré. rétinopathie, glaucome léger à modéré	Panophtalmie, cécité, glaucome sévère, décollement de la rétine
<b>Peau (aigue)</b>	Absence de modification	Érythème, desquamation sèche, alopecie/épilation	Desquamation humide par plaques sans œdème	Desquamation humide confluyente avec œdème et/ou ulcération, nécrose, hémorragie
<b>Peau (tardif)</b>	Absence de modification	Alopecie, hyperpigmentation, leucotrichie	Induration asymptomatique (fibrose)	Induration sévère entraînant une déficience physique, nécrose
<b>SNC (aigu)</b>	Absence de modification	Troubles neurologiques mineurs ne nécessitant pas plus qu'un traitement à la prednisolone	Résultats neurologiques nécessitant plus qu'un traitement à la prednisolone	Atteinte neurologique grave telle que paralysie, coma, obtusion.
<b>SNC (tardif)</b>	Absence de modification	Troubles neurologiques mineurs ne nécessitant pas plus qu'un traitement à la prednisolone	Résultats neurologiques nécessitant plus qu'un traitement à la prednisolone	Convulsions, paralysie, coma
<b>Muqueuses/ cavité orale (aigu)</b>	Absence de modification	Pétéchies sans mucosite	Mucosite parsemée sans douleur	Mucosite fibrineuse confluyente nécessitant une analgésie, ulcération, nécrose, hémorragie

**Tableau 2** : Score de toxicité radiative aiguë et tardive pour les yeux, la peau, le système nerveux central (SNC) et la cavité orale, d'après le Veterinary Radiation Therapy Oncology Group (VROG). KCS : kératoconjonctivite sèche.

Pour créer un plan standard de RT conformationnelle tridimensionnelle (3DCRT), les étapes de base sont l'acquisition d'un CT du patient (bien qu'une IRM volumétrique puisse également être utilisée), la délimitation des volumes cibles (tumeur et "marges") et des organes à risque (OAR, tissus normaux risquant d'être endommagés), et la création du plan de traitement dans un logiciel de planification. Dans la planification conventionnelle du traitement 3DCRT, l'ordinateur calcule la dose à partir d'un plan qui est optimisé manuellement par le planificateur (humain) qui procède à des ajustements pour tenter de minimiser la dose aux OAR tout en assurant une dose adéquate et homogène dans la tumeur. Cela implique que le planificateur choisisse le nombre et la direction des faisceaux, qu'il applique le collimateur multilames (MLC) à une marge autour de la tumeur et qu'il l'ajuste manuellement, et qu'il sélectionne les coins dynamiques et les pondérations de faisceaux appropriées (Figure 2). La RT par modulation d'intensité (IMRT) quant à elle, repose sur la planification inverse, où le logiciel calcule les informations spatiales pour produire une configuration de faisceaux plus complexe (Lawrence *et al.* 2010). Essentiellement, le planificateur génère la distribution souhaitée et l'ordinateur calcule ensuite un groupe d'intensités de faisceaux qui produira, autant que possible, la distribution de dose souhaitée. Cela permet à la dose de rayonnement de se conformer plus précisément à la forme tridimensionnelle de la tumeur en modulant ou en contrôlant l'intensité du faisceau de rayons X dans de multiples petits volumes, en utilisant de très nombreux "faisceaux" avec différentes configurations MLC (et une dose hétérogène pour chaque faisceau) afin d'obtenir une conformation plus précise et de contrôler précisément la dose délivrée à différents volumes à l'intérieur du volume traité.



**Figure 2 :** Planification de radiothérapie conformationnelle tridimensionnelle à l'aide d'Eclipse™, pour le traitement d'un carcinome nasal chez une chienne femelle stérilisée Staffordshire Bull Terrier de 3 ans. Le chien est anesthésié et immobilisé à l'aide d'un coussin à mémoire de forme et d'un masque thermoplastique (flèche en pointillé). Un bolus (flèches blanches) a été placé sur le masque thermoplastique et dans la cavité buccale pour améliorer la distribution de la dose. Le lavis de couleur indique une dose supérieure à 95 %. Le volume tumoral brut est indiqué en vert et le volume de traitement prévu en bleu, l'œil gauche en jaune et l'œil droit en violet, le cerveau étant indiqué en cyan

Le traitement par RT définitive permet d'administrer une dose plus importante tout en limitant la toxicité tardive des rayonnements, et théoriquement en limitant la repopulation et/ou la réparation des cellules tumorales (Connell & Hellman 2009, Nolan & Dobson 2018). Les protocoles définitifs chez le chien sont le plus souvent fractionnés quotidiennement ou administrés sur 3 jours par semaine, classiquement lundi, mercredi et vendredi (MWF). Les temps médians de survie (TMS) d'un certain nombre d'études utilisant un traitement définitif sont résumés dans le Tableau 3 et varient de 319 à 650 jours (Thrall *et al.* 1993, Morris *et al.* 1994, Mason *et al.* 2013, Sones *et al.* 2013, Tan-Coleman *et al.* 2013, Stevens *et al.* 2020). Les études plus anciennes (avant 1995), portant sur moins de 10 chiens et celles évaluant des traitements multimodaux ont été exclues. L'impact du fractionnement précis sur le résultat n'est pas clair : Sones et collaborateurs (2013) ont rapporté que les chiens atteints de sarcomes intranasaux recevant des fractions quotidiennes avaient un TMS significativement plus long que les chiens recevant un protocole MWF (Sones *et al.* 2013). Il est également intéressant de noter qu'une étude plus ancienne utilisant une source de cobalt pour traiter 115 chiens a montré que le TMS était plus long pour les chiens traités avec trois fractions ou plus par semaine (par rapport à moins fréquemment) et au moins 37 Gy au total (Yoon *et al.* 2008).

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planning	Protocole	Traitement associé†	TMS‡ (jours)
<b>Adams <i>et al.</i> 1998</b>	21	Cobalt 60	Planning CT	10 fractions quotidiennes, 42 Gy	Aucun	428
<b>Adams <i>et al.</i> 2005</b>	40	MV RT, machine non spécifiée	Planning 2D	10 fractions quotidiennes, 42 Gy	Aucun	601 (19.7 mois)
<b>Hunley <i>et al.</i> 2010</b>	12	6 MV linac	IMRT¶	MWF, 18 ou 21 fractions, 54 or 63 Gy	Chimiothérapie : 5 chiens	446
<b>Lawrence <i>et al.</i> 2010</b>	31	6 MV linac	IMRT	10 fractions quotidiennes, 42 Gy	Aucun	420
<b>Mason <i>et al.</i> 2013</b>	22	6 MV linac	3DCRT	MWF, 12 fractions, 48 Gy	Aucun	427
<b>Sones <i>et al.</i> 2013</b>	35	Linacs variés	Non spécifié	10-20 fractions quotidiennes, 42-60 Gy	Chirurgie et/ou chimiothérapie pour quelques chiens	641
<b>Sones <i>et al.</i> 2013</b>	40	Linacs variés	Non spécifié	MWF, 10-12 fractions, 45-54 Gy	Chirurgie et/ou chimiothérapie pour quelques chiens	347
<b>Stevens <i>et al.</i> 2020</b>	29 (tous stade 4 Adams modifié)	6 MV linac	IMRT	10 fractions quotidiennes, 42 Gy	Réirradiation, chirurgie et/ou chimiothérapie pour quelques chiens	319

**Tableau 3 :** Efficacité de la radiothérapie définitive chez les chiens atteints de tumeurs nasales.

† AINS et traitements antibiotiques non inclus.

‡ TMS : temps médian de survie. Quand spécifié en mois, approximation en jours par multiplication par 30.5

3DCRT : tridimensional conformational radiation therapy

CT : computed tomography

Gy : Gray

IMRT : intensity-modulated radiation therapy

Linac : linear accelerator

MV : mégavolt

MWF : Monday – Wednesday - Friday

En raison du problème des effets indésirables, des protocoles palliatifs (hypofractionnés) sont utilisés pour améliorer la qualité de vie du chien tout en minimisant la toxicité aiguë des rayonnements et en augmentant le TMS (par rapport aux chiens non traités) (Rassnick et al. 2006). Ces protocoles sont souvent utilisés à un stade avancé de la maladie ou pour des raisons pratiques et financières. Chez les patients atteints d'une maladie avancée, il est important de minimiser la toxicité aiguë lorsque l'espérance de vie est courte. L'hypofractionnement permet aux cellules normales de se réparer et de se repeupler entre les traitements, ce qui minimise la toxicité aiguë. Bien que le risque de toxicité tardive des rayonnements soit accru par la taille importante des fractions, cet aspect est moins important s'il est peu probable que le patient vive assez longtemps pour développer une radiotoxicité tardive significative. Les protocoles de RT palliative (résumés dans le Tableau 4) tendent à administrer 32 Gy ou moins en fractions de 5 à 8 Gy une fois par semaine (Mellanby *et al.* 2002, Gieger *et al.* 2008, Buchholz *et al.* 2009, Belshaw *et al.* 2011, Maruo *et al.* 2011, Fujiwara *et al.* 2013, Sones *et al.* 2013, Tan-Coleman *et al.* 2013). Les TMS des chiens traités par RT palliative par rapport à la RT définitive sont généralement plus courts.

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planning	Protocole	Traitement associé†	TMS‡ (jours)
<b>Belshaw <i>et al.</i> 2011</b>	42	4 MV¶ linac	Planning CT (manuel)	4 fractions hebdomadaires, 34-36 Gy	Aucun	201
<b>Buchholz <i>et al.</i> 2009</b>	38	6 MV linac	Planning CT 3D	3-4 fractions hebdomadaires, 24-32 Gy ou, 4-5 fractions bi-hebdomadaires, 24-30 Gy ou 10 fractions quotidiennes, 30 Gy	Chimiothérapie : 3 chiens, Réirradiation : 3 chiens, Les deux : 3 chiens	308 (10.1 mois)
<b>Fujiwara <i>et al.</i> 2013</b>	38	4 MV linac	Planning CT 3D	6-10 Gy/ fractions (median 8) hebdomadaires, 16.2-32.4 Gy (median 32)	Chirurgie : 7 chiens, Réirradiation : 5 chiens	512
<b>Gieger <i>et al.</i> 2008</b>	48	Linac ou Cobalt 60	Méthodes variées	16-40 Gy (median 24), 4-10 Gy/ fractions (median 8)	Réirradiation : 11 chiens	146
<b>Maruo <i>et al.</i> 2011</b>	63	4 MV linac	Planning CT 3D	4 fractions hebdomadaires, 10-40 Gy (median 32)	Aucun	197
<b>Mellanby <i>et al.</i> 2002</b>	56	4 MV linac	Radiographique et manuel	4 fractions hebdomadaires, 36 Gy	Aucun	212
<b>Sones <i>et al.</i> 2013</b>	18	Linacs variés	Non spécifié	4-8 fractions, 20-36 Gy	Chirurgie et/ou chimiothérapie pour quelques chiens	305
<b>Tan-Coleman <i>et al.</i> 2013</b>	18	6 MV linac	Méthodes variées	5 fractions quotidiennes, 20 Gy au total	Chimiothérapie : 6 chiens, Réirradiation : 6 chiens	309

**Tableau 4** : Efficacité de la radiothérapie palliative chez les chiens atteints de tumeurs nasales.

† AINS et traitements antibiotiques non inclus.

‡ TMS : temps médian de survie. Quand spécifié en mois, approximation en jours par multiplication par 30.5

CT : computed tomography

Gy : Gray

IMRT : intensity-modulated radiation therapy

Linac : linear accelerator

MV : mégavolt

Les progrès technologiques ont permis de développer d'autres techniques, notamment la tomothérapie hélicoïdale, la SRS et la SRT. La tomothérapie hélicoïdale est une forme avancée d'IMRT avec guidage par l'image intégré (CT à mégavoltage) qui permet l'administration d'un faisceau de rayonnement en éventail tout en corrigeant les imprécisions de positionnement (Gutiérrez *et al.* 2007). Le principal avantage de l'IMRT/la tomothérapie hélicoïdale par rapport à la RT conventionnelle est une réduction significative de la radiotoxicité, avec une action équivalente sur la tumeur (Lawrence *et al.* 2010, Glasser *et al.* 2014). La SRS et la SRT reposent sur des principes similaires de traitement

stéréotaxique hautement ciblé et ne sont disponibles que dans quelques centres de référence aux États-Unis (Nolan & Gieger 2019). Leur différence réside dans le fractionnement. Alors que la SRT est souvent hypofractionnée (trois à cinq traitements), la SRS délivre une dose unique et très élevée de rayonnements. La SRT a été utilisée dans plusieurs études récentes, résumées dans le Tableau 5, avec des TMS variant de 345 à 563 jours, ce qui est similaire aux traitements RT définitifs précédemment décrits (Glasser 2014, Gieger & Nolan 2018, Mayer *et al.* 2019, Fox-Alvarez *et al.* 2020, Nolan *et al.* 2022, Yoshikawa *et al.* 2023). Par ailleurs, la radiotoxicité décrite dans ces études est considérée comme acceptable et similaire aux autres types de RT.

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planning	Protocole	Traitement associé†	TMS‡ (jours)
<b>Gieger &amp; Nolan 2018</b>	29	6 MV¶ linac	Planning CT	3 fractions quotidiennes de 10 Gy	Réirradiation : 6 chiens	354
<b>Mayer et al. 2019</b>	28	6 MV linac	Planning CT	3 fractions de 9 ou 10 Gy, ou une fraction de 20 Gy	Chimiothérapie : 2 chiens	388
<b>Glasser et al. 2014</b>	19	6 MV linac	Planning CT	3 fractions quotidiennes de 9 Gy	Chimiothérapie : 6 chiens, Réirradiation : 2 chiens	399
<b>Fox-Alvarez et al. 2020</b>	17	6 MV linac	Planning CT	3 fractions sur 3 à 7 jours	Chimiothérapie : 4 chiens	563
<b>Nolan et al. 2022</b>	129	6 MV linac	Planning CT	3 fractions quotidiennes de 10 Gy	Traitements antécédents : Chirurgie : 10 chiens RT définitive : 5 chiens Chimiothérapie : 9 chiens	542
<b>Yoshikawa et al. 2023</b>	182	6 MV linac	Planning CT	3 fractions de 10 Gy sur 3 à 8 jours	Réirradiation : 7 chiens	441

**Tableau 5** : Efficacité de la radiothérapie stéréotaxique chez les chiens atteints de tumeurs nasales.

† AINS et traitements antibiotiques non inclus.

‡ TMS : temps médian de survie. Quand spécifié en mois, approximation en jours par multiplication par 30.5

CT : computed tomography

Gy : Gray

Linac : linear accelerator

MV : mégavolt

La SRS *sensu stricto* a été décrite une fois dans la littérature vétérinaire (Kubicek et al. 2016). Cinquante-sept chiens atteints de tumeurs nasales ont reçu une dose unique de 18,75 à 56 Gy (médiane 30 Gy) : le temps de survie médian était de 259 jours (8,5 mois). Il convient de noter que parmi ces chiens, sept étaient atteints d'ostéosarcome et que leur temps de survie était significativement plus court (3,1 mois). Jusqu'à présent, on ne sait pas si ces méthodes permettent d'obtenir les mêmes résultats que la RT conventionnelle. En outre, une précision absolue est nécessaire, car les fractions importantes peuvent entraîner des toxicités significatives pour les tissus normaux.

Parmi les autres formes de RT utilisées pour les tumeurs nasales figure la protonthérapie, qui repose sur le fait qu'à l'extrémité de la trajectoire du proton, la dose de rayonnement tombe rapidement à zéro (pic de Bragg). Cela permet de cibler précisément l'irradiation tout en épargnant les tissus sains. Mayer-Stankeová et collaborateurs ont décrit neuf chiens atteints de tumeurs nasales et traités selon différents protocoles (4 jours par semaine, 10 à 17 fractions, 35 à 59,5 Gy) (Mayer-Stankeová *et al.* 2009). Le TMS était de 385 jours, similaire au traitement de RT conventionnel, mais la radiotoxicité était globalement moins sévère. Une deuxième étude a utilisé un modèle mathématique pour comparer la planification de la RT et les probabilités de toxicité des rayonnements entre la protonthérapie et la photonthérapie (Kaser-Hotz *et al.* 2002) et a montré que la protonthérapie serait bénéfique pour les chiens atteints de tumeurs de forme complexe, car elle permettait une meilleure conformation de la zone de traitement à la tumeur. Les accélérateurs linéaires de particules (linacs) à faisceaux de protons ont toujours été très coûteux, mais il existe aujourd'hui des appareils plus abordables. Bien qu'il s'agisse d'une technique prometteuse, il est peu probable qu'elle devienne accessible à nos patients vétérinaires dans un avenir proche.

La RT par orthovoltage est considérée comme inappropriée pour les tumeurs nasales, car elle utilise des photons de 200 à 500 kV, qui ne peuvent pas pénétrer dans la cavité nasale à travers l'os et entraînent une dose absorbée élevée au niveau de la peau et de l'os. Elle a cependant été utilisée dans le passé, souvent en conjonction avec une exérèse chirurgicale (Thrall & Harvey 1983, Ladue *et al.* 1999, Northrup *et al.* 2001).

La récurrence de la tumeur nasale est la cause la plus fréquente de décès chez les chiens ayant reçu une RT. Plusieurs études ont évalué l'utilisation d'une augmentation de dose, appelée boost (en augmentant légèrement la dose par fraction ou en ajoutant une fraction supplémentaire sur un ou plusieurs jours de traitement) pour réduire l'incidence de la récurrence tumorale (Thrall *et al.* 1993, Ladue *et al.* 1999, Gutiérrez *et al.* 2007, Bradshaw *et al.* 2015, Soukup *et al.* 2018). Thrall et collaborateurs (1993) ont constaté que la technique de boost était associée à une radiotoxicité inacceptable et ne permettait pas d'augmenter le TMS (Thrall *et al.* 1993). Par conséquent, la technique du boost ne s'est pas imposée. Une méthode plus prometteuse, appelée boost intégré, permet d'augmenter la dose délivrée au centre de la tumeur tout en évitant les tissus sains : elle s'appuie sur l'IMRT (Gutiérrez *et al.* 2007, Bradshaw *et al.* 2015). Une étude pilote récente sur neuf chiens a utilisé l'IMRT avec un boost intégré, avec des effets secondaires acceptables (Soukup *et al.* 2018). Il est clair que les techniques de boost sont plus susceptibles d'être utiles avec une planification de traitement très précise et peuvent être incorporées dans une approche IMRT.

La ré-irradiation en cas de récurrence a été décrite dans plusieurs études, résumées dans le Tableau 6 (Bommarito *et al.* 2011, Gieger *et al.* 2013, Sones *et al.* 2013, Rancilio *et al.* 2016). Globalement, il semble que la ré-irradiation augmente le temps de survie des chiens atteints de tumeurs nasales, bien que les intervalles sans progression soient plus courts après la seconde irradiation. Cela est peut-être dû aux doses plus faibles utilisées et/ou à la sélection de sous-populations de cellules tumorales résistantes

au rayonnement lors de la première irradiation. Une deuxième irradiation est également associée à un risque plus élevé d'effets secondaires importants, en particulier d'effets secondaires tardifs tels que la nécrose ischémique.

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planning	Protocole	Traitement associé <sup>†</sup>	TMS‡ (jours)
<b>Bommarito et al. 2011</b>	9	8 MV <sup>¶</sup> linac	3DCRT	1 <sup>er</sup> traitement RT : 44-55 Gy (médiane 50 Gy) en 15-20 fractions (médiane 18) Second traitement : 23-44 Gy (médiane 36 Gy) en 14-20 fractions (médiane 18)	Chimiothérapie : 5 chiens Chirurgie : 1 chien	927 temps total
<b>Gieger et al. 2013</b>	37	Linacs variés	Méthodes variées	1 <sup>er</sup> traitement RT RT : dose médiane de 24 Gy en 3 fractions Second traitement : dose médiane de 20Gy	Aucun	453 à partir du 1 <sup>er</sup> traitement et 180 à partir du second traitement
<b>Sones et al. 2013</b>	8	Linac	Non spécifié	Protocoles variés	Non spécifié	654 temps total

**Tableau 6** : Efficacité de la ré-irradiation chez les chiens atteints de tumeurs nasales

‡ TMS : temps médian de survie. Quand spécifié en mois, approximation en jours par multiplication par 30.5

3DCRT : tridimensional conformational radiation therapy

Gy : Gray

Linac : linear accelerator

MV : Megavolt

### 1.1.3 La chirurgie dans le traitement des tumeurs nasales du chien

L'exentération chirurgicale des tumeurs nasales a été utilisée en association avec d'autres traitements, notamment la RT et la chimiothérapie, mais aussi la PDT et l'électrochimiothérapie (Thrall & Harvey 1983, Thompson *et al.* 1992, Thrall *et al.* 1993, Henry *et al.* 1998, Northrup *et al.* 2001, Lucroy *et al.* 2003, Adams *et al.* 2005, Yoon *et al.* 2008, Maruo *et al.* 2015, Bowles *et al.* 2016, Suzuki *et al.* 2017). Deux études n'ont pas réussi à montrer un effet bénéfique de la chirurgie sur la durée de survie par rapport à la RT seule (Henry *et al.* 1998, Yoon *et al.* 2008), et les patients ayant eu une RT ont eu la survie la plus longue dans une étude multimodale (Henry *et al.* 1998). Inversement, deux études ont montré une augmentation significative de la durée de survie chez les chiens ayant bénéficié d'une chirurgie et d'une RT par rapport à une RT seule (Morris *et al.* 1994, Adams *et al.* 2005). Quatre autres études (portant respectivement sur 18, 42, 16 et 32 chiens) ont montré des TMS de 23, 7,4, 15,2 et 14,5 mois chez les chiens traités par chirurgie et RT, ce qui est similaire au TMS rapporté chez les chiens traités par RT seule (Thrall & Harvey 1983, Northrup *et al.* 2001, Bowles *et al.* 2016, Morgan *et al.*

2018). En résumé, la résection chirurgicale comme seul traitement des tumeurs nasales n'est pas recommandée, car elle n'offre aucun avantage par rapport aux traitements plus récents et présente une morbidité et une mortalité significatives. Une étude suggère que l'ablation chirurgicale avant la RT pourrait améliorer le pronostic par rapport à la RT seule (Morris *et al.* 1994), tandis que d'autres réfutent cette hypothèse (Henry *et al.* 1998, Yoon *et al.* 2008). De la même manière, deux études suggèrent qu'une ablation chirurgicale après RT pourraient être supérieure au traitement RT seul (Adams *et al.* 2005, Bowles *et al.* 2016).

#### **1.1.4 La chimiothérapie et les autres thérapies médicales dans le traitement des tumeurs nasales du chien**

Chez l'homme atteint d'un carcinome nasopharyngé, le schéma thérapeutique classique est basé sur la chimioradiothérapie avec ou sans chimiothérapie d'induction. Ce schéma repose sur le principe que la chimiothérapie traite et/ou prévient les métastases régionales et distantes, tandis que la RT traite le site primaire. En outre, les agents chimiothérapeutiques peuvent potentialiser l'effet de la RT (Johnson *et al.* 2020). Chez l'homme, la plupart de ces tumeurs sont des carcinomes non kératinisants ou des carcinomes à cellules squameuses, avec un potentiel métastatique relativement élevé (Vogel *et al.* 2010). Cependant, le taux de métastases dans les tumeurs nasales canines est relativement faible, et la plupart sont des adénocarcinomes (Mortier & Blackwood 2020). De plus, chez l'homme, les résultats des essais cliniques randomisés et des méta-analyses sont malheureusement contradictoires et un nombre important d'entre eux ne parviennent pas à démontrer une augmentation de la durée de survie avec l'ajout de la chimiothérapie à la RT (Wang 1989, Liu *et al.* 2018).

Malgré son manque apparent d'efficacité, la chimiothérapie a été utilisée dans de nombreuses études évaluant les résultats et la survie des chiens atteints de tumeurs nasales (Hahn *et al.* 1992, Henry *et al.* 1998, Lana *et al.* 2004, Langova *et al.* 2004, Tan-Coleman *et al.* 2013, George *et al.* 2016, Woodruff *et al.* 2019). Les médicaments évalués pour les tumeurs solides comprennent la doxorubicine, la carboplatine, la cisplatine, le mitoxantrone, le fluorouracil-cyclophosphamide ou encore la moutarde L-phénylalanine, mais le plus populaire reste la carboplatine. Les protocoles standards de traitement des lymphomes ont été utilisés pour le lymphome nasal. La chimiothérapie est le plus souvent utilisée en complément d'un traitement local, mais son utilisation en tant que traitement unique a été rapportée et est résumée dans le Tableau 7 (Hahn *et al.* 1992, Langova *et al.* 2004, Woodruff *et al.* 2019). L'étude la plus importante décrit 29 chiens atteints de différents types de tumeurs nasales, traités par 1 à 6 cycles alternant carboplatine (300 mg/m<sup>2</sup>) et doxorubicine (30 mg/m<sup>2</sup>), administrées à trois semaines d'intervalle. Les chiens ont également reçu quotidiennement du piroxicam (0,3 mg/ Kg), et il n'y a pas eu de groupe de contrôle ne recevant que du piroxicam. Le TMS des chiens participant à l'étude était de 234 jours (de 12 à 1698 jours), et cinq chiens ont également reçu un second protocole de chimiothérapie. D'après les signes cliniques, trois chiens ont présenté une réponse complète, 13 chiens une réponse

partielle, six chiens une maladie stable et six chiens une progression (Woodruff *et al.* 2019). De même, Hahn *et al.* (1992) ont évalué la survie de 11 chiens atteints d'adénocarcinome nasal traités par 2 à 8 cycles de cisplatine à une dose de 60 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle, à intervalles de 3 semaines. Le taux de réponse radiographique était de 27% et le TMS de 140 jours (20 semaines) (Hahn *et al.* 1992). Langova et collaborateurs (2004) ont décrit huit chiens atteints de tumeurs nasales (sept carcinomes et un ostéosarcome) ayant reçu une chimiothérapie comme seul traitement (Langova *et al.* 2004). Tous les chiens ont été traités avec des doses alternées de carboplatine 300 mg/m<sup>2</sup> IV et de doxorubicine 30 mg/m<sup>2</sup> IV toutes les 3 semaines, soit huit doses au total. Les chiens ont également reçu du piroxicam à la dose de 0,3 mg/kg par voie orale une fois par jour. Là encore, il n'y avait pas de groupe témoin recevant uniquement du piroxicam. Une rémission complète a été obtenue chez quatre chiens, une rémission partielle chez deux chiens et deux chiens avaient une maladie stable, d'après l'évaluation par CT. Les signes cliniques ont disparu après une ou deux doses de chimiothérapie chez tous les chiens. Les chiens ont eu des durées de rémission allant de 150 à 960 jours. Aucun intervalle sans progression ni temps de survie n'a été rapporté.

Article	Nombre de chiens	Protocole de chimiothérapie	TMS (jours)
<b>Hahn <i>et al.</i> 1992</b>	11	2 à 8 cycles de cisplatine 60g/m <sup>2</sup> IV toute les 3 semaines	140
<b>Langova <i>et al.</i> 2004</b>	8	Doses alternées de carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> IV et de doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> IV toute les 3 semaines pendant 8 traitements. Piroxicam 0.3 mg/kg PO une fois par jour	210
<b>Woodruff <i>et al.</i> 2019</b>	29	Doses alternées de carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> IV et de doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> IV toute les 3 semaines pendant 8 traitements. Piroxicam 0.3 mg/kg PO une fois par jour. De nombreux chiens n'ont reçu qu'un traitement partiel, et 5 chiens ont reçu un second traitement	234

**Tableau 7** : Efficacité de la chimiothérapie chez les chiens atteints de tumeurs nasales

IV : intraveineuse

PO : per os

TMS : temps médian de survie

Dans une étude plus ancienne, Henry et collaborateurs (1998) ont décrit 64 chiens atteints d'adénocarcinome nasal ayant reçu des combinaisons variables de chirurgie, de RT et de chimiothérapie (Henry *et al.* 1998). La chimiothérapie n'a pas été associée à une augmentation significative de la survie, bien que les chiens ayant reçu une chimiothérapie à base de fluorouracil et de cyclophosphamide aient eu une durée médiane de survie plus longue que les autres chiens. La RT a été associée aux meilleurs résultats dans cette étude : les chiens ayant reçu une RT ont eu un temps de survie médian significativement plus long (424 jours) que les chiens n'ayant pas reçu de RT (126 jours).

George et collaborateurs (2016) ont évalué l'efficacité de la RT et de la chimiothérapie sur le lymphome nasal canin (George *et al.* 2016). Dans le groupe des lymphomes de grade intermédiaire à élevé, les cas traités par RT avec ou sans chimiothérapie (11 chiens) avaient un TMS de 455 jours et ceux traités par chimiothérapie seule (six chiens) avaient un TMS de 157 jours.

Certains agents chimiothérapeutiques (dont la cisplatine) peuvent agir comme des sensibilisateurs au rayonnement et potentialiser la mort cellulaire (Lana *et al.* 2004). Un implant intramusculaire de cisplatine à libération lente a été évalué chez 51 chiens, en conjonction avec la RT (Lana *et al.* 2004). L'implant a été globalement bien toléré (bien que six d'entre eux aient dû être retirés en raison d'une toxicité locale). Le TMS a été de 474 jours, ce qui est similaire à d'autres études utilisant la RT seule.

Le toceranib, un inhibiteur de tyrosine kinase, a également été évalué dans le traitement des tumeurs nasales chez le chien (De Vos *et al.* 2012, London *et al.* 2012, Merino-Gutierrez *et al.* 2020). L'étude la plus récente décrit l'utilisation du toceranib (2,4-2,9 mg/Kg, PO, MWF) sur 24 chiens présentant un carcinome nasal stades 3 ou 4, avec une amélioration clinique chez 72,2% des chiens et un TMS de 139 jours (Merino-Gutierrez *et al.* 2020). London et collaborateurs (2012) décrit l'utilisation du toceranib en traitement palliatif sur 23 chiens (2,6 mg/Kg PO, MWF) et les auteurs ont observé une amélioration clinique transitoire chez 72,2% des chiens. Seuls 4 chiens ont présenté de légers effets secondaires, et le TMS a été 139 jours. Le toceranib avait précédemment été utilisé sur sept chiens atteints de tumeurs nasales à une dose médiane de 2,7 mg/kg avec un protocole MWF (London *et al.* 2012). Quatre de ces chiens ont reçu une RT avant le traitement au tocéranib. Deux chiens ont eu un CT de suivi et ont montré une rémission complète et une maladie stable, respectivement. Trois autres chiens ont montré une amélioration clinique. La durée médiane du traitement pour ces cinq chiens était de 18 semaines, mais aucun TMS n'a été calculé. La plupart des chiens ont présenté des effets secondaires, principalement gastro-intestinaux, mais le traitement a été globalement bien toléré. De Vos et collaborateurs (2012) ont rapporté le cas d'un chien atteint d'un carcinome à cellule squameuse primaire des sinus frontaux qui a partiellement répondu au tocéranib, avec une durée de survie globale de 237 jours (De Vos *et al.* 2012). Bien que les données soient limitées, ces études indiquent que le tocéranib peut être utilisé et pourrait être bénéfique chez les chiens atteints de tumeurs nasales. Ceci est cohérent avec le fait que de nombreux carcinomes nasaux canins expriment le récepteur du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR), une cible de cet inhibiteur de tyrosine kinase (Gramer *et al.* 2017).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ont été couramment utilisés dans le traitement des tumeurs nasales, à la fois pour réduire la réaction inflammatoire qui accompagne souvent les tumeurs nasales et pour leur activité anti-cyclo-oxygénase-2 (COX-2). La COX-2 est exprimée dans 71 à 95 % des carcinomes nasaux canins (Belshaw *et al.* 2011, Cancedda *et al.* 2015). Une étude sur 24 chiens a comparé la survie et la qualité de vie de chiens traités soit par RT et firocoxib (groupe 1), soit par RT seule (groupe 2) (Cancedda *et al.* 2015). Il n'y a pas eu de différence dans le TMS (groupe 1, 335 jours ; groupe 2, 244 jours). Cependant, l'activité et l'appétit des chiens ont été significativement améliorés

avec l'ajout du firocoxib au traitement. L'impact du piroxicam sur le temps de survie dans les études de chimiothérapie rapportées ci-dessus est inconnu.

## 1.2 Les tumeurs intracrâniennes du chien

### 1.2.1 Introduction sur les tumeurs intracrâniennes du chien

Les tumeurs cérébrales primaires sont relativement courantes chez le chien, avec une incidence estimée entre 0,015 et 3% (Snyder *et al.* 2006, Song *et al.* 2013, Rossmeisl & Pancotto 2020). Les méningiomes sont des tumeurs extra-axiales d'origine méningée et sont les néoplasmes intracrâniens primaires les plus fréquemment rapportés chez les chiens (Snyder *et al.* 2006, Sessums *et al.* 2009, Motta *et al.* 2012, Song *et al.* 2013, Rossmeisl & Pancotto 2020). Ils sont classés histologiquement en 3 grades, selon leur degré de malignité (Belluco *et al.* 2022). Les tumeurs gliales, en particulier les astrocytomes et les oligodendrogliomes, sont des tumeurs intra-axiales et les deuxièmes tumeurs intracrâniennes les plus fréquemment décrites (Snyder *et al.* 2006). Ces types tumoraux sont également classés par grade (1 à 3) selon leur agressivité (Koehler *et al.* 2018). Cependant, il existe d'autres types de tumeurs gliales, telles que le glioblastome et la gliomatose cérébrale ou astroblastome (Martin-Vaquero *et al.* 2012, Bentley *et al.* 2016, Schweizer-Gorgas *et al.* 2018), moins fréquemment rencontrés chez le chien. Les tumeurs pituitaires, bien que non considérées comme des tumeurs cérébrales primaires *stricto sensu*, représentent environ 13% des tumeurs intracrâniennes chez le chien, et sont classées en adénomes ou carcinomes en fonction de la présence ou non de métastases, d'après la classification de la WHO (Snyder *et al.* 2006). Les adénomes pituitaires peuvent être classés comme invasifs ou non-invasifs, selon la présence ou non d'infiltration locale du parenchyme cérébral (Pollard *et al.* 2010). Il existe plusieurs sous-types de tumeurs pituitaires chez le chien, l'adénome corticotrope étant le plus fréquemment décrit (Sanders *et al.* 2021).

D'autres types de tumeurs intracrâniennes sont également décrits chez le chien, et incluent le sarcome histiocytaire (Mariani *et al.* 2015, Toyoda *et al.* 2020), le lymphome (Palus *et al.* 2012), les tumeurs des plexus choroïdes (Westworth *et al.* 2008), la tumeur à cellules granuleuses (Anwer *et al.* 2013), l'épendymome, l'esthésioneuroblastome ou neuroblastome olfactif (Söffler *et al.* 2016), entre autres.

Les données épidémiologiques des chiens retrouvées dans la littérature vétérinaire sont différentes selon les types de tumeurs. Concernant le méningiome, l'âge moyen est 11 ans et il est plus souvent rencontré chez les grandes races. Les races prédisposées sont le golden retriever, le schnauzer miniature, le rat terrier et le boxer (Sturges *et al.* 2008). Les tumeurs gliales sont également classiquement rencontrées chez les grands chiens, avec un âge moyen de 8 ans. Les races brachycéphales (boston terrier, boxer, bouledogue français et anglais, border terrier et mastiff) sont prédisposées, avec des prédispositions potentiellement différentes en fonction des types de tumeurs gliales (Song *et al.* 2013). Un locus sur le chromosome canin (CFA) 26 a été fortement associé au risque de gliome chez plusieurs

races de chiens, avec une cartographie régionale révélant des variants de nucléotides simples dans trois gènes voisins DENR, CAMKK2 et P2RX7 qui sont fortement associés à la susceptibilité au gliome (Truvé *et al.* 2016). Les signes cliniques associés aux tumeurs cérébrales primaires sont variés et dépendent de la localisation de la masse, mais les signes les plus couramment décrits sont, par ordre décroissant de fréquence d'apparition, les crises convulsives, une réduction de vigilance, un syndrome vestibulaire, de l'amaurose, une douleur cervicale et une anisocorie. Il a été observé que les crises convulsives sont plus fréquentes lors de tumeurs gliales que lors de méningiomes (Snyder *et al.* 2006), et que parmi les chiens atteints de gliome ceux présentant des crises convulsives comme symptôme d'appel avaient un meilleur pronostic (José-López *et al.* 2021). Par ailleurs, la présence de troubles neurologiques à l'examen clinique semble être un facteur pronostique négatif chez les chiens atteints de gliomes traités par 3DCRT (Debreuque *et al.* 2020).

Concernant les tumeurs pituitaires, les données épidémiologiques sont complexes à extraire, car les chiens présentant une masse pituitaire dans la littérature vétérinaire sont souvent une sous-population de chiens présentant un hyperadrénocorticisme d'origine pituitaire (PDH), avec ou sans masse présente. Les moyennes d'âge rapportées varient entre 8,5 et 10,5 ans (Pollard *et al.* 2010, Marcinowska *et al.* 2015), et les races prédisposées au PDH sont le bichon frisé, le teckel, le yorkshire terrier, le caniche nain, le setter irlandais et le basset hound (O'Neill *et al.* 2016, Hoffman *et al.* 2018). Environ 10 à 20 % des chiens atteints de PDH présentent une tumeur de plus de 10 mm de diamètre (macrotumeur), et les chiens de tailles moyenne à grande semblent prédisposés aux macrotumeurs (Melian *et al.* 2010, Pollard *et al.* 2010). Que les tumeurs hypophysaires soient fonctionnelles ou non, environ 50 % des chiens atteints de macrotumeurs hypophysaires développent des signes neurologiques liés à la masse, notamment une inclinaison de la tête, des déficits des nerfs crâniens, une cécité, une ataxie, une dépression, un comportement anormal et des crises convulsives (Théon & Feldman 1998).

Le diagnostic définitif des tumeurs intracrâniennes est particulièrement compliqué du fait de leur localisation au sein de la boîte crânienne. L'examen de choix pour obtenir un diagnostic définitif reste l'analyse histologique, qui permet en outre de déterminer le type de tumeur, mais également le sous-type et le grade tumoraux. Les biopsies guidées par CT utilisant la stéréotaxie ont été décrites en médecine vétérinaire, avec une bonne performance diagnostique et un taux de complications de l'ordre de 14% dans une étude (Koblik *et al.* 1999). Cependant, les biopsies sont rarement réalisées en routine, et le diagnostic repose largement sur la combinaison de l'épidémiologie, la présentation clinique, et les examens d'imagerie (Keyerleber *et al.* 2015, Mariani *et al.* 2015, José-López *et al.* 2021). Des études ont montré que l'IRM avait une précision de 60 à 70% dans la prédiction du type histologique de tumeur cérébrale primaire (Ródenas *et al.* 2011, Stadler *et al.* 2017). Du fait de cette absence fréquente de diagnostic histologique, peu d'études décrivent les facteurs pronostiques liés au type et au grade des tumeurs. Une étude récente n'a pas trouvé de corrélation entre le grade des gliomes et la survie sur une large population de chiens, une autre a déterminé que les gliomes de haut grade ont un moins bon pronostic lors de traitement chirurgical (MacLellan *et al.* 2018, José-López *et al.* 2021).

Une seule étude incluant un diagnostic histologique a mis en évidence une relation entre le sous-type des méningiomes et le pronostic chez des chiens traités chirurgicalement par aspiration. Dans cette étude, l'analyse des temps de survie en fonction des sous-types histologiques de tumeurs était le suivant : anaplasique, 0 jour ; fibroblastique, 10 jours ; psammomateux, > 313 jours ; méningothélial, > 523 jours ; et transitionnel, 1254 jours (Greco *et al.* 2006). Ces résultats n'ont pas été retrouvés dans les autres études (Forward *et al.* 2022).

L'imagerie en coupe, en particulier l'IRM, est couramment utilisée dans la différenciation des tumeurs intracrâniennes des autres affections cérébrales telles que les méningoencéphalites dysimmunitaires (MUA) et les accidents vasculaires (CVA) (Cherubini *et al.* 2005, Cervera *et al.* 2010, Wolff *et al.* 2012). Il semblerait que l'IRM soit relativement sensible et spécifique pour différencier les tumeurs intracrâniennes des MUA, mais que les CVA soient souvent confondus avec les deux autres catégories (Wolff *et al.* 2012). L'accord inter-observateur dans la différenciation de ces lésions varie de modéré à substantiel ( $0.65 < \kappa < 0.76$ ) (Leclerc *et al.* 2013). Des techniques d'IRM avancées ou fonctionnelles, telles que la spectroscopie, l'imagerie pondérée en diffusion (DWI) et la perfusion (PWI) pourraient également être utiles dans la différenciation des lésions cérébrales (Sutherland-Smith *et al.* 2011, Stadler *et al.* 2014, Carrera *et al.* 2016).

Les caractéristiques d'imagerie médicale des tumeurs intracrâniennes (Figure 3), en particulier en IRM, ont été bien décrites dans la littérature vétérinaire (Snyder *et al.* 2006, Miller *et al.* 2019, José-López *et al.* 2021), et sont résumées dans le Tableau 8. Classiquement, les méningiomes sont des masses ou des plaques à base large contre les méninges (extra-axiales), sont bien délimités, hyperintense en pondération T2, isointense en pondération T1, et présentent un rehaussement marqué après injection de produit de contraste paramagnétique. Les gliomes sont des tumeurs intra-axiales et à ce titre souvent entourées de parenchyme cérébral. Ils sont classiquement hyperintenses en pondération T2, hypointenses en pondération T1, avec un rehaussement variable, mais généralement moindre que celui des tumeurs extra-axiales. Des exemples d'images IRM de méningiome, de gliome et de tumeur pituitaire sont montrés en Figure 3. L'imagerie peut également être utile dans la différenciation des types de tumeurs, la détermination du grade et l'affinement du pronostic (Rodenias *et al.* 2011, Stadler *et al.* 2017, Banzato *et al.* 2017, Barge *et al.* 2023).

Alors que les caractéristiques d'IRM conventionnelle ne semblent pas être utiles dans la différenciation des grades des méningiomes (Sturges *et al.* 2008), l'analyse de texture par IRM a montré une précision de 97% dans la différenciation entre méningiomes de bas grade et grades II et III, avec une corrélation positive entre hétérogénéité du signal en pondération T1 et le grade histologique (Banzato *et al.* 2018). Par ailleurs, l'analyse morphologique et les techniques avancées d'IRM telles que le DWI, l'imagerie du tenseur de diffusion (DTI) et l'angiographie pourraient également être utiles pour différencier les méningiomes des sarcomes histiocytaires. Ainsi, les méningiomes ont tendance à être hyperintenses en pondération T2 et à repousser les vaisseaux avoisinants, alors que les sarcomes histiocytaires sont souvent isointense à hypointense en pondération T2 et entourent les vaisseaux locaux.

Les sarcomes histiocytaires ont également plus tendance à envahir les sulci, entraîner un rehaussement méningé local que les méningiomes (Ishikawa *et al.* 2016, Wada *et al.* 2017). Enfin, en DWI, les sarcomes histiocytaires présentent une diffusion plus basse que les méningiomes, de par leur plus forte densité cellulaire (Ishikawa *et al.* 2016, Wada *et al.* 2017).

Les oligodendrogliomes ont des contours plus lisses, sont plus fréquemment en contact avec les ventricules et les méninges, et ont une intensité de signal en pondération T1 plus basse que les astrocytomes (Bentley *et al.* 2013, José-López *et al.* 2021). Les astrocytomes sont associés à un œdème péritumoral plus important (Bentley *et al.* 2013). Par ailleurs, les gliomes de haut grade sont plus invasifs, présentent un rehaussement plus intense, et sont plus susceptibles d'être cavitaires et d'être localisés en région thalamo-capsulaire (Bentley *et al.* 2013, José-López *et al.* 2021). Une étude récente utilisant l'intelligence artificielle a montré que l'analyse de texture des gliomes cérébraux permettait de caractériser le type de gliome avec une précision de 94 %, et de prédire un haut grade tumoral avec une précision de 87 % (Barge *et al.* 2023). En ce qui concerne le pronostic, les gliomes cavitaires, la taille de la tumeur, une localisation sub-ventriculaire ou infra-tentorielle et un envahissement ventriculaire pourraient être associés à un pronostic moins favorable lors de traitement RT (Dolera *et al.* 2018, Kelsey *et al.* 2018, Debreuque *et al.* 2020, Rohrer *et al.* 2022).

Les masses pituitaires n'ont été que peu décrites en IRM, mais tendent à être hyper-intenses et hétérogènes en pondération T2, iso-intenses en pondération T1w, fortement rehaussantes (de manière homogène le plus souvent), avec peu d'œdème péri-lésionnel et un effet de masse variable en fonction de la taille de la tumeur (Kraft *et al.* 1997, Pollard *et al.* 2010) (Figure 3). Des minéralisations, kystes et zones hémorragiques sont parfois présents. Les adénomes invasifs semblent être plus larges que les adénomes et toucher des chiens plus jeunes. Les métastases des carcinomes pituitaires sont souvent indétectables (Pollard *et al.* 2010). Les tumeurs de grande taille, qui s'étendent largement rostro-caudalement et qui envahissent le cercle artériel cérébral semblent avoir un pronostic moins favorable après chirurgie (Kent *et al.* 2007, van Rijn *et al.* 2016, Sato *et al.* 2016). Il semblerait que les tumeurs fonctionnelles soient associées à un TMS plus faible lors de traitement radiothérapeutique (Hansen *et al.* 2019). Cependant, une autre étude a montré une association positive entre l'activité endocrine des tumeurs et le pronostic, sur une population de chiens recevant un traitement palliatif (Kent *et al.* 2007).

Lors d'études globales des facteurs pronostiques chez les chiens atteints de tumeur intracrânienne sans différenciation du type de tumeur, la localisation de la tumeur pourrait être un facteur pronostique lors de traitement RT. En effet, les tumeurs rostro-tentorielles semblent avoir un pronostic plus favorable que les tumeurs localisées au tronc cérébral, et elles-mêmes ayant possiblement un pronostic plus favorable que celles localisées au cervelet (Carter *et al.* 2021).

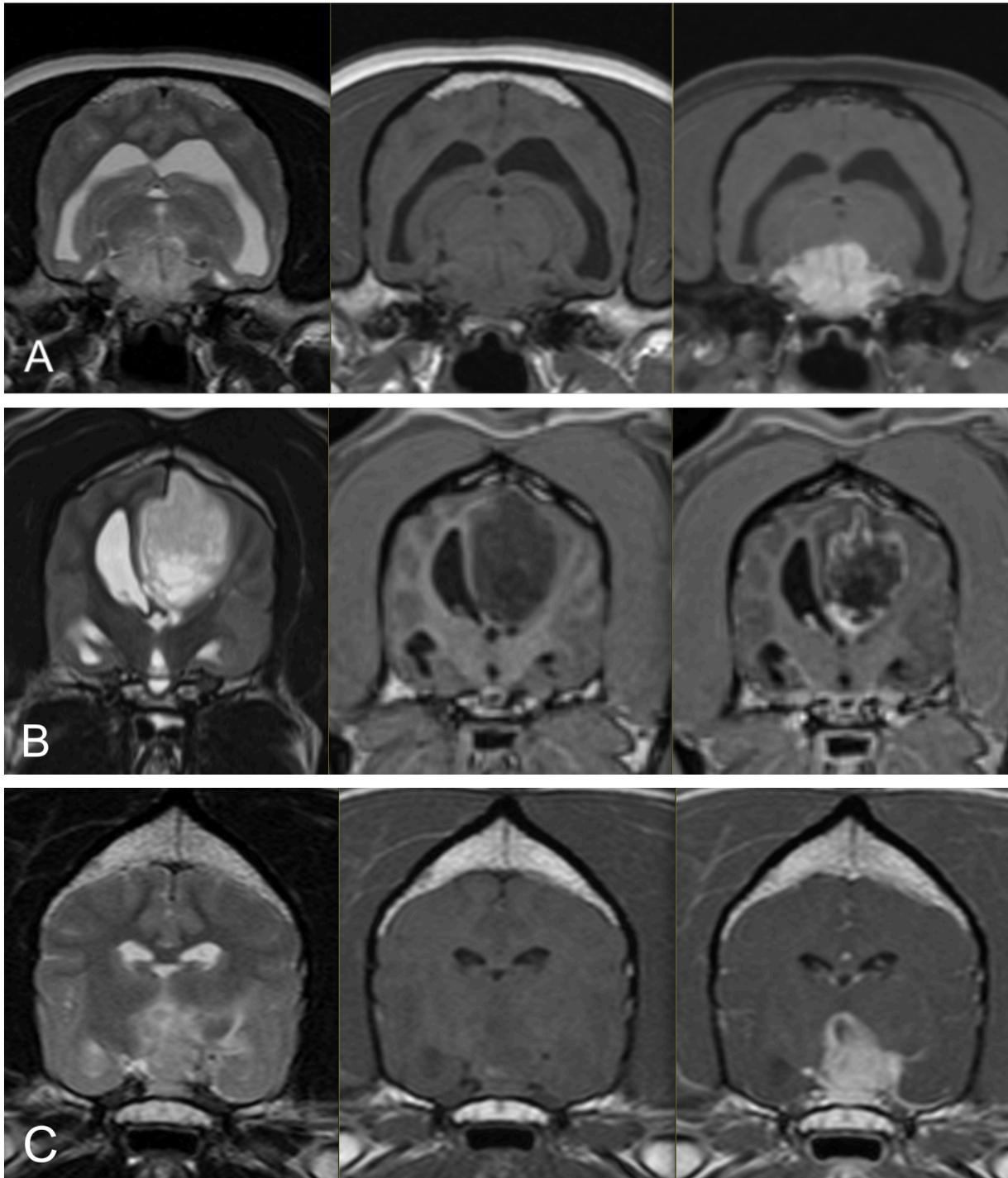
En l'absence de traitement (ou avec un traitement palliatif à base de corticoïdes et d'anti-épileptiques), le TMS des chiens atteints d'une tumeur intracrânienne varie entre 1,7 et 6,2 mois (Rossmesl *et al.* 2013, Van Meerven *et al.* 2014, Dolera *et al.* 2018, Monforte Monteiro *et al.* 2020).

Une étude décrit un TMS chez les chiens atteints d'une masse pituitaire non traités de 359 jours (Kent *et al.* 2007).

Les traitements des tumeurs intracrâniennes les plus décrits sont la RT, l'exérèse chirurgicale et la chimiothérapie. D'autres traitements innovants tels que l'immunothérapie, l'administration chimiothérapeutique améliorée par convection, les ultrasons haute-fréquences ou encore la thérapie génique ont été testés chez le chien, souvent dans un cadre de recherche en neuro-oncologie translationnelle (Rossmeisl *et al.* 2014). Ces traitements innovants ont peu été étudiés en situation clinique et ne seront pas discutés dans cette partie.

Origine	Méningiomes	Gliomes	
	Extra-axiale	Axiale	
		Astrocytome	Oligodendrogliome
<b>Localisation :</b>			
<b>bulbes olfactifs</b>	20%	7%	20%
<b>télocéphale</b>	62%	55%	80%
<b>diencéphale</b>	10%	52%	24%
<b>mésencéphale/métencéphale</b>	12%	17%	12%
<b>myélocéphale</b>	25%	17%	16%
<b>cervelet</b>	18%	27%	0%
<b>Délimitation</b>	85% bien délimités 15% mal délimités	55% bien délimités 45% mal délimités	
<b>Intensité T1</b>	10% hypointense 70% isointense 20% hyperintense	80% hypointense 20% isointense	
<b>Intensité T2</b>	75% hyperintense 24% isointense 1% hypointense	90% hyperintense 5% hypointense 60% hétérogène	
<b>Réhaussement</b>	Souvent intense 55% homogène 35% hétérogène 10% non-réhaussant	45% partiel/en anneau 35% modéré/intense 25% non-réhaussant	
<b>« Œdème » péritumoral</b>	90%	60%	
<b>Effet de masse</b>	90%	85%	
<b>Autres caractéristiques</b>	35% queue durale 20% cavitations cavités ? Hyperostose/sclérose/lyse calvariale occasionnelle Calcifications ou hémorragies occasionnelles	40% cavités ? 40% calcifications ou hémorragies	

**Tableau 8 :** caractéristiques IRM des méningiomes et gliomes chez le chien, exprimées en pourcentage de fréquence d'observation (Snyder *et al.* 2006, Miller *et al.* 2019, José-López *et al.* 2021)



**Figure 3 :** Images IRM en coupe transverse et pondération T2 (images de gauche), T1 (images du milieu) et T1 après injection de gadolinium (images de droite). **A : méningiome.** On observe une masse extra-axiale de la base du crâne, hyperintense en pondération T2, isointense en pondération T1, et à rehaussement marqué et homogène. **B : gliome.** On observe une masse d'apparence multicavitaire en région du gyrus cingulaire, hyperintense en pondération T2, hypointense en pondération T1 et à rehaussement périphérique. **C : masse pituitaire.** On observe une masse extra-axiale à base large contre la fosse pituitaire, hyperintense en pondération T2, isointense à hypointense en pondération T1 et à rehaussement marqué et homogène.

### 1.2.2 La radiothérapie dans le traitement des tumeurs intracrâniennes

La description des différents types de RT, des protocoles (définitif, palliatif), de la planification et de la radiotoxicité a été abordée dans la partie sur les tumeurs nasales.

Le plan de traitement des tumeurs intracrâniennes, bien que souvent réalisé à partir d'un CT comme pour les tumeurs nasales, peut également être réalisé à partir d'image IRM. Le processus est plus complexe, mais il semblerait qu'une planification sur images fusionnées CT et IRM (superposition des images CT et IRM avec concordance anatomiques) soit optimale dans la délimitation des tumeurs (Berlato *et al.* 2018, Morimoto *et al.* 2020). Certains gliomes ne sont pas visibles en CT (Gielen *et al.* 2013), et une planification à partir d'images IRM paraîtrait logique.

En ce qui concerne la radiotoxicité, il semble important de mentionner la toxicité cérébrale des rayonnements ionisants, notamment les effets tardifs sur le cerveau (Brearley *et al.* 1999). Les lésions cérébrales aiguës, qui se manifestent quelques jours ou semaines après l'irradiation, sont rares avec les techniques actuelles de RT. Les lésions précoces différées surviennent 1 à 6 mois après l'irradiation et peuvent se traduire par une démyélinisation transitoire accompagnée de somnolence. Bien que ces deux lésions précoces puissent entraîner des réactions graves, elles sont normalement réversibles et se résorbent spontanément. En revanche, les lésions cérébrales tardives différées, caractérisées histopathologiquement par des anomalies vasculaires, une démyélinisation et finalement une nécrose de la substance blanche, sont généralement observées plus de six mois après l'irradiation ; ces lésions tardives sont considérées comme irréversibles et progressives (Greene-Schloesser *et al.* 2012). Cependant, tout comme pour les tumeurs sino-nasales, les technologies avancées de planification et d'administration de la RT permettent de réduire significativement ces effets (Van Asselt *et al.* 2020).

De nombreuses études ont montré l'efficacité de la RT dans le traitement des tumeurs intracrâniennes, en tant que traitement unique ou en association avec la chirurgie ou la chimiothérapie, bien que la variabilité inhérente à ces études [différentes machines, différents protocoles et plans de RT, différents systèmes de stadification, différentes cohortes de patients (types de tumeurs et traitements concomitants) et différentes analyses statistiques], rende difficile toute comparaison directe. Les TMS en fonction des différentes localisations des masses sont de 348 à 906 jours pour les méningiomes/masses extra-axiales (Keyerleber *et al.* 2015, Griffin *et al.* 2016, Dolera *et al.* 2018, Kelsey *et al.* 2018), 283 à 698 jours pour les gliomes/masses intra-axiales (Dolera *et al.* 2018, Debreuque *et al.* 2020, Moirano *et al.* 2020, Rohrer *et al.* 2022) et 147 à 1405 jours pour les masses pituitaires (De Fornel *et al.* 2007, Kent *et al.* 2007, Marcinowska *et al.* 2015, Hansen *et al.* 2019, Gieger & Nolan 2021). Les différentes études sont présentées dans le Tableau 9.

Entre 57% et 100% des chiens montrent une amélioration de leur statut neurologique après RT, en général durant les 3 semaines suivant le traitement (Kelsey *et al.* 2018, Hansen *et al.* 2019, Van Asselt *et al.* 2020, Debreuque *et al.* 2020). Concernant les méningiomes, une étude récente décrit environ 20% de réponses complètes, 50% de réponses partielles et 30% de stabilité après SRS (Dolera *et al.* 2018).

La réponse au traitement évaluée selon la méthode RECIST sur des gliomes a été décrite comme complète dans 62% des cas, partielle dans 25% des cas, et stable dans 14% des cas (Debreuque *et al.* 2020).

Le traitement RT permet en outre de diminuer l'incidence des crises convulsives (pendant plus d'un an chez 60% des chiens), et ce plus efficacement et plus longtemps qu'un traitement symptomatique chez les chiens atteints de tumeurs intracrâniennes de types variés (Monforte-Monteiro *et al.* 2020).

Concernant les tumeurs pituitaires, la plus large étude décrit une réponse partielle chez 100% des chiens traités par de la SRS ou SRT (Hansen *et al.* 2019). Une seconde étude sur 9 chiens décrit une excellente réponse au traitement, mais également la présence d'hémorragie pituitaire post-RT chez 4 chiens sur 9 (Sawada *et al.* 2018). Il semblerait également que fractionner le traitement soit associé à un meilleur pronostic en 3DCRT (Marcinowska *et al.* 2015). Dans cette étude, le temps de survie court des chiens ayant reçu 38 Gy en 5 fractions pourrait être dû à la progression tumorale mais aussi à une radiotoxicité subaiguë.

Les effets secondaires sont extrêmement difficiles à évaluer dans la littérature, de par la variabilité des suivis post-RT et des descriptions cliniques, mais également de par la difficulté à les diagnostiquer chez les animaux. Les effets secondaires aigus sont généralement discrets à modérés, et auto-résolutifs (Hansen *et al.* 2019, Van Asselt *et al.* 2020,). Cependant, une étude portant sur 32 chiens présentant un méningiome et traités par SRS décrit des effets secondaires aigus chez 30% des chiens traités, parfois fatals (Kelsey *et al.* 2018). Dans une autre étude sur 30 chiens atteints de méningiomes, une démyélinisation subaiguë a été suspectée chez environ 70% des chiens traités avec une SRT (Griffin *et al.* 2016). Dans cette même étude, 4 chiens ont présenté une dégradation brutale de leur statut neurologique 4 à 16 semaines post-irradiation, et une radiotoxicité subaiguë a été fortement suspectée et positivement corrélée au volume de parenchyme cérébral normal inclus dans le GTV (confirmée pour un chien).

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planification RT	Protocole RT	Traitement associé†	TMS (jours)
<b>Méningiomes</b>						
<b>Dolera et al. 2018</b>	23 méningiomes cérébraux, 6 méningiomes spinaux (suspectés)	Linac	CT et IRM SRT	33 Gy en 5 fractions journalières	Aucun	97,4% survie à 2 ans (tumeur-spécifique) TMS non atteint
<b>Kelsey et al. 2018</b>	32 méningiomes (suspectés)	Linac	CT et IRM SRS	16 Gy avec 25-50% boost intégré	Aucun	519
<b>Griffin et al. 2016</b>	30 méningiomes (suspectés)	Linac	CT SRT	24-30 Gy en 2 à 5 fractions	Aucun	561 (toutes causes et tumeur-spécifique)
<b>Keyerleber et al. 2015</b>	31 méningiomes (suspectés ou histologie)	Linac	CT 3DCRT	45-54 Gy en 15-20 fractions MWF	Chirurgie (10 chiens) Chimiothérapie (4 chiens)	577 (toutes causes) 906 (tumeur-spécifique)
<b>Axlund et al. 2002</b>	13 méningiomes (confirmés)	Linac : 6 chiens Cobalt-60 : 5 chiens	Non renseigné	28-49,5 Gy (MWF)	Non renseigné	540 (Cobalt-60) 630 (Linac)
<b>Gliomes</b>						
<b>Rohrer Bley et al. 2022</b>	32 gliomes (suspectés)	Linac	CT ou IRM/CT 3DCRT ou IMRT	20 x 2.5 Gy, 10 x 4Gy or a 10 x 4 Gy avec 15% boost intégré	Aucun	<u>489</u>
<b>Moirano et al. 2020</b>	21 gliomes (suspectés)	Cyberknife	CT et IRM SRS/SRT	1 à 3 fois 8-10 Gy	Chimiothérapie	636 (258 pour une fraction, 865 pour plusieurs fractions)
<b>Debreuque et al. 2020</b>	38 gliomes (suspectés)	Linac	CT 30 chiens 3DCRT 8 chiens IMRT	15 x 3 Gy	Aucun	698 (tumeur-spécifique)
<b>Dolera et al. 2018</b>	42 gliomes (suspectés)	Linac	CT et IRM SRT	35-42 Gy en 5-10 fractions	20 chiens temozolomide	383 (RT) 420 (RT + temozolomide)

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planification RT	Protocole RT	Traitement associé†	TMS (jours)
<b>Tumeurs pituitaires</b>						
<b>Gieger &amp; Nolan 2021</b>	13 masses pituitaires (suspectées)	Linac	CT et IRM SRS	16 Gy avec 25-50% boost intégré	Aucun	357
<b>Hansen et al. 2019</b>	45 masses pituitaires (suspectées)	Linac	CT SRS/SRT	1 x 15 Gy ou 3 x 8 Gy	Aucun	311
<b>Marcinowska et al. 2015</b>	24 masses pituitaires	Linac	IRM 3DCRT	38 Gy en 10 fractions (MWF) ou en 5 fractions hebdomadaires	Trilostane (10 chiens)	235 (961 pour 10 fractions, 182 pour 5 fractions)
<b>Kent et al. 2007</b>	19 masses pituitaires	Linac 4MV	CT 3DCRT	48 Gy en fractions de 3 Gy (MWF)		1405
<b>De Fornel et al. 2007</b>	12 masses pituitaires	Linac 5MV :7 chiens Cobalt-60 : 5 chiens	CT 3DCRT	36 Gy en 12 fractions (MWF)	Réirradiation (3 chiens)	539

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planification RT	Protocole RT	Traitement associé†	TMS (jours)
<b>Combinaison de différentes tumeurs intracrâniennes</b>						
<b>Carter et al. 2021</b>	33 méningiomes 16 gliomes, 7 macro-adénomes pituitaires, 3 « autres » (suspectés)	Cyberknife	CT et IRM SRS	3 x 7-8,5 Gy	Aucun	738 (globale) >2079 (méningiomes)
<b>Monforte Monteiro et al. 2020</b>	15 intra-axiales 3 extra-axiales	Linac	Non décrit	Protocoles variés	Aucun	1038
<b>Van Asselt et al. 2020</b>	37 méningiomes 12 gliomes 1 tumeur des gaines nerveuses	Linac	CT +/- IRM IMRT	45-50 Gy MWF	Aucun	543 (18.1 mois)
<b>Mariani et al. 2015</b>	38 méningiomes, 4 tumeurs pituitaires, 3 gliomes, 6 « autres » (suspectés ou histologie)	Linac	CT et IRM SRS	15 Gy	Aucun	399 (toutes causes) 493 (tumeur-spécifique)
<b>Brearley et al. 1999</b>	41 extra-axiales 34 intra-axiales 8 pituitaires	Linac 4 MV	Non renseigné	38 Gy en 5 fractions hebdomadaires	Aucun	348 (extra-axiales) 283 (intra-axiales) 147 (pituitaires)

**Tableau 9** (4 dernières pages) : Comparaison des données de la littérature vétérinaire sur les effets de la radiothérapie sur les tumeurs intracrâniennes chez le chien

† AINS et traitements antibiotiques non inclus.

TMS : temps médian de survie. Quand spécifié en mois, approximation en jours par multiplication par 30.5

3DCRT : tridimensional conformational radiation therapy

CT : computed tomography

Gy : Gray

IRM : imagerie par résonance magnétique

Linac : linear accelerator

MV : mégavolt

MWF : Monday – Wednesday – Friday

RT : radiation therapy

SRS : stereotactic radiosurgery

SRT : stereotactic radiation therapy

### 1.2.3 La chirurgie dans le traitement des tumeurs intracrâniennes

L'exérèse chirurgicale des tumeurs extra-axiales et pituitaires a été décrite dans plusieurs études, avec ou sans RT post-opératoire.

Concernant les méningiomes, l'étude la plus large porte sur 101 chiens (Forward *et al.* 2022). Tous les chiens de cette étude ont été opérés, 57% ayant une approche trans-frontale, 36% une approche rostro-tentorielle et 7% une approche sous-occipitale. Un traitement adjuvant a été utilisé chez une majorité des chiens : hydroxyurée postopératoire chez 41 % des chiens, chimiothérapie topique peropératoire chez 22 % des chiens et RT postopératoire chez 11 % des chiens. Le TMS rapporté fut de 353 jours. Seize pourcents des chiens ont développé une complication post-opératoire, et 6% sont décédés durant cette période. Aucune différence de TMS n'a été mise en évidence en fonction des catégories de traitements, mais les chiens qui ont subi une approche rostro-tentorielle avait un pronostic plus favorable que ceux ayant subi une approche trans-frontale. Une autre étude sur 31 chiens a comparé la chirurgie combinée à la RT et la RT seule (linac, 3DCRT, 45 à 54 Gy en fractions de 2,5 à 3 Gy, MWF) et n'a pas trouvé de différence significative entre les TMS (TMS global 577 jours) (Keyerleber *et al.* 2015).

Une autre étude a décrit une série de cas de 7 chiens atteints de méningiome du cortex frontal ayant subi une excision chirurgicale par approche pré-frontale. L'intervention chirurgicale a été suivie d'une RT 3 semaines plus tard (5 MV, 12 fractions en 36 Gy). Le TMS chez les 6 chiens ayant survécu à la chirurgie était de 18 mois mais la morbidité post-opératoire semblait importante dans cette série de cas (Uriarte *et al.* 2011). Une étude sur une population de chiens plus large (17 chiens) décrit une approche trans-frontale ou rostro-tentorielle et une exérèse tumorale par aspirateur chirurgical. Le TMS était de 1254 jours pour les 14 chiens qui ont survécu, avec toutefois une morbidité post-opératoire importante (Greco *et al.* 2006).

Une autre étude sur 31 chiens atteints de méningiome a comparé le traitement chirurgical avec ou sans RT adjuvante (cobalt-60 ou linac). Le TMS des chiens traités chirurgicalement était de 7 mois, contre 18-21 mois pour ceux traités par chirurgie et RT. Tout comme pour les études précédentes, la mortalité et la morbidité post-opératoires étaient relativement élevées (Axlund *et al.* 2002).

En ce qui concerne les tumeurs pituitaires, l'hypophysectomie trans-sphénoïdale a été décrite dans la littérature vétérinaire (Meij *et al.* 1998, Hanson *et al.* 2007, van Rijn *et al.* 2016). Une étude sur une large population de chiens atteints de PDH (52 chiens) décrit une résolution des signes cliniques chez 43 chiens. Il est important de noter que seulement 28 chiens présentaient un élargissement de l'hypophyse (jusqu'à 11 mm de hauteur). Cinq chiens sont décédés en période post-opératoire, et quelques complications ont été décrites, telles que des kérato-conjonctivites sèches chez de nombreux chiens et une exophtalmie chez de rares chiens (Meij *et al.* 1998). Dans une autre étude portant sur 150 chiens ayant reçu une hypophysectomie trans-sphénoïdale, 12 (8%) sont décédés en période post-opératoire et 127 (85%) ont présenté une rémission initiale, et 95 (63%) une rémission à long terme

(Hanson *et al.* 2007). Une étude plus récente portant sur 306 chiens présentant un PDH décrit une rémission chez 92% des chiens et un TMS de 781 jours (van Rijn *et al.* 2016). Les auteurs ont également trouvé une corrélation négative entre le TMS et la taille de la tumeur (Hanson *et al.* 2007, van Rijn *et al.* 2016).

#### **1.2.4 La chimiothérapie et les autres thérapies médicales dans le traitement des tumeurs intracrâniennes**

Différents agents chimiothérapeutiques ont été utilisés chez les chiens atteints de tumeurs intracrâniennes, comprenant la lomustine, l'hydroxyurée, le temozolomide et le tocéranib (Van Meervenne *et al.* 2014, Moirano *et al.* 2020).

Les chimiothérapies cytotoxiques administrées par voie systémique, y compris les agents capables de pénétrer la barrière hémato-méningée, sont largement inefficaces en tant qu'agents uniques pour le traitement des tumeurs cérébrales. Une étude récente n'a pas démontré de différence de survie entre les chiens atteints de tumeurs cérébrales traités de manière symptomatique avec de la prednisone et des médicaments anticonvulsivants et ceux qui ont reçu un traitement symptomatique et de la lomustine (Van Meervenne *et al.* 2014). L'adjonction d'une chimiothérapie (molécules variées) à la RT a été associé à une augmentation du TMS chez les chiens atteints de gliomes (Moirano *et al.* 2020), mais une autre étude n'a pas montré d'effet bénéfique à l'adjonction de chimiothérapie à la RT (Dolera *et al.* 2018).

### **1.3 Les tumeurs oro-faciales du chien**

#### **1.3.1 Introduction sur les tumeurs oro-faciales du chien**

Les tumeurs oro-faciales représentent 5 à 7 % de tous les cancers canins (Frew & Dobson 1992), avec une incidence de 0,5 % des chiens dans une étude récente (Cray *et al.* 2020). Les tumeurs malignes oro-faciales les plus courantes chez les chiens sont les mélanomes (MM), les carcinomes à cellules squameuses (SCC), les fibrosarcomes (FS) et les ostéosarcomes (OS) (Cray *et al.* 2020). En ce qui concerne les tumeurs considérées bénignes, l'améloblastome acanthomateux (AA) est la plus fréquemment observée (Fiani *et al.* 2011). De nombreux autres types de tumeurs ont été décrits dans la littérature, tels que de nombreux types de tumeurs odontogéniques, des plasmocytomes, et des sarcomes des tissus mous, des mastocytomes, entre autres (Wright *et al.* 2008, Hillman *et al.* 2010, Amory *et al.* 2014, Cray *et al.* 2021). Dans cette partie seront essentiellement traités les MM, SCC, FS et OS.

Le MM canin représente 17 à 40 % des tumeurs oro-faciales malignes du chien (Sarowitz *et al.* 2017). Contrairement aux autres tumeurs oro-faciales, les races de petite taille sont plus fréquemment touchées,

en particulier le cocker spaniel, le caniche nain, le setter gordon, le chow-chow et le golden retriever. L'âge moyen des chiens atteints est de 11,4 ans (Ramos-Vara *et al.* 2000).

Les métastases sont fréquentes, allant de 41 à 74 % pour les nœuds lymphatiques régionaux et de 14 à 92 % pour les métastases à distance (Liptak & Withrow 2020). Le taux de récurrence locale après chirurgie est de 43 % dans une large étude (Ramos-Vara *et al.* 2000).

Le SCC canin représente 17 à 25 % des tumeurs oro-faciales malignes du chien (Liptak & Withrow 2020). C'est une tumeur épithéliale invasive qui est souvent divisée en deux catégories dans la littérature vétérinaire : amygdalienne et non-amygdalienne (Todoroff *et al.* 1979). Le SCC amygdalien est 10 fois plus fréquent en zone urbaine qu'en zone rurale, suggérant une association étiologique avec les polluants environnementaux (Reif & Cohen 1971). Il existe 5 sous-types de SCC non-amygdalien chez le chien : conventionnel, papillaire, basal, adéno-squameux et à cellules fusiformes (Nemec *et al.* 2012).

Le risque de métastases dépend de la localisation de la tumeur ; les SCC amygdaliens et caudaux de la langue présentant un risque de métastases plus élevé que les SCC rostraux. Le taux de métastases du SCC des amygdales et de la base de la langue peut atteindre 73 %, avec de fréquentes récurrences locales et régionales. Le taux de métastases du SCC oral rostral est quant à lui d'environ 20 % (McMillan *et al.* 1982, Beck *et al.* 1986, Brooks *et al.* 1988). Par ailleurs, le taux de récurrence locale après traitement chirurgical est d'environ 17 % (Sarowitz *et al.* 2017).

Le FS oral représente 8 à 25 % des tumeurs malignes de la cavité buccale chez les chiens (Liptak & Withrow 2020). L'âge médian des chiens au moment du diagnostic est de 8 ans, ce qui est légèrement plus jeune que les chiens diagnostiqués avec un MM et un SCC de la cavité buccale (Liptak & Withrow 2020). Des FS oraux chez des jeunes chiens (moins de 5 ans au moment du diagnostic) ont également été décrits (Todoroff & Brodey 1979, Hoyt 1984). Les chiens de race moyenne à grande (>20 kg) semblent être plus fréquemment touchés. Il n'y a pas de préférence pour le sexe, bien que les chiens mâles soient sur-représentés dans certaines études (Todoroff & Brodey 1979, Hoyt 1984). Les golden retrievers sont sur-représentés, en particulier dans les cas présentant une variante de la tumeur caractérisée par un comportement biologique agressif malgré des caractéristiques histologiques plutôt bénignes, connu sous le nom de FS oral "haut-bas". Chez 12 à 20% des chiens présentant ce type tumoral, des métastases régionales ou pulmonaires tardives apparaissent, et le taux de récurrence locale après traitement chirurgical est d'environ 50% (Ciekot *et al.* 1994, Sarowitz *et al.* 2017).

L'OS représente 4 à 14,5% des tumeurs oro-faciales du chien (Kosovsky *et al.* 1991, Sarowitz *et al.* 2017, Wingo 2018). Il touche le plus souvent les chiens de grandes races, avec une médiane d'âge de 9,3 ans et une médiane de poids de 32 Kg. La localisation maxillaire est la plus fréquente, suivie de la mandibule (Selmic *et al.* 2014). L'étiologie exacte de l'OS n'est pas connue, bien que plusieurs causes possibles aient été suggérées telles que les radiations ionisantes, la génétique, les maladies osseuses préexistantes, les traumatismes, les virus osseux, et les implants osseux métalliques (Wingo *et al.* 2018). L'OS orofacial semble avoir un potentiel métastatique inférieur à celui de l'OS appendiculaire, avec cependant une incidence de métastases entre 20 et 40%, principalement pulmonaires (Selmic *et al.* 2014,

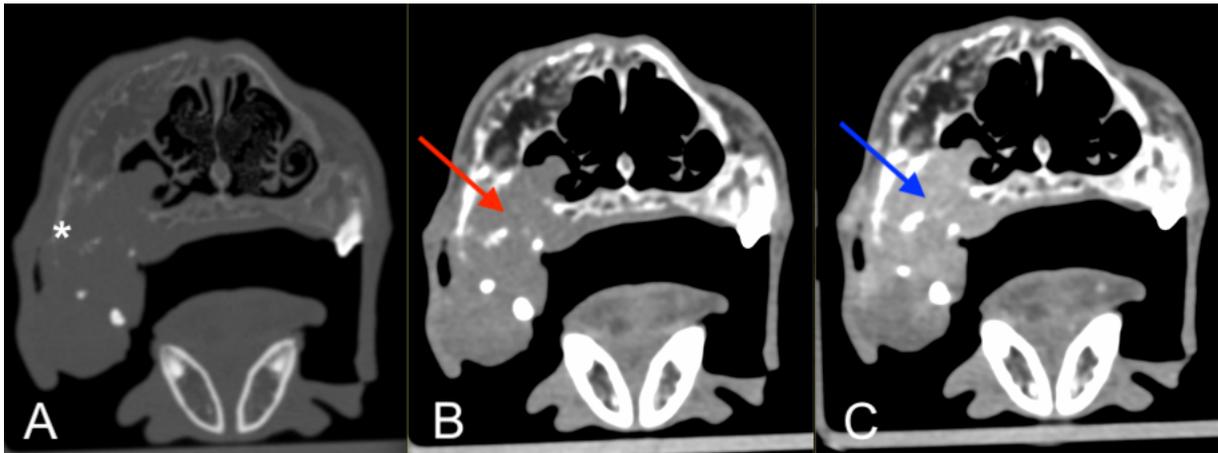
Sarowitz *et al.* 2017). Par ailleurs, l'OS orofacial est localement agressif, avec un taux de récurrence de 30 à 80% chez les chiens traités chirurgicalement (Farcas *et al.* 2014, Sarowitz *et al.* 2017).

L'approche diagnostique des tumeurs oro-faciales est relativement constante selon le type de tumeur, et comprend une analyse histologique ou cytologique de la tumeur et un bilan d'extension (Bonfanti *et al.* 2015). Lors de biopsie incisionnelle de la tumeur, il est préférable d'accéder à la lésion par la cavité buccale plutôt que par la peau, afin d'éviter une dissémination tumorale. Tout comme pour les tumeurs nasales, le choix de la zone à biopsier et la taille de la biopsie sont également importants, en raison de la présence de nécrose et d'inflammation qui accompagnent souvent la tumeur et qui peuvent conduire à des résultats faussement négatifs. Dans certains cas, plusieurs biopsies peuvent être nécessaires (Martano *et al.* 2018).

Les caractéristiques d'imagerie des tumeurs oro-faciales du chien ont été décrites dans la littérature vétérinaire (Frew *et al.* 1992, Kafka *et al.* 2004, Ghirelli *et al.* 2013, Amory *et al.* 2014, Carozzi *et al.* 2015). Cependant, ces études descriptives comprennent fréquemment des types et des localisations tumoraux variés, avec peu d'animaux dans chaque catégorie, rendant les comparaisons entre types de tumeurs difficiles.

Historiquement, la radiographie était l'examen de choix pour évaluer l'extension tumorale, en particulier à l'os (Frew *et al.* 1992, Ghirelli *et al.* 2013). Elle a été largement supplantée par l'imagerie en coupe, en particulier le CT, mais aussi l'IRM, qui permettent une évaluation plus fine de la taille et de la localisation de la masse, ainsi que du degré d'infiltration tumorale des structures osseuses et molles environnantes (Kafka *et al.* 2004, Ghirelli *et al.* 2013, Amory *et al.* 2014, Carozzi *et al.* 2015).

Par ailleurs, l'imagerie en coupe est particulièrement utile pour la planification chirurgicale et RT, ainsi que dans le suivi. Bien que certaines caractéristiques d'imagerie soient classiquement associées aux tumeurs malignes, comme la présence d'une lésion osseuse agressive, un rehaussement hétérogène, une masse de grande taille, une infiltration tissulaire locale et la présence de métastases, l'imagerie n'a que peu d'utilité dans la différenciation des types de tumeurs (Kafka *et al.* 2004, Carozzi *et al.* 2015, Lee *et al.* 2021). Un exemple d'une tumeur orale maligne est présenté en Figure 4.



**Figure 4 :** CT en coupes transverses et en reconstruction osseuse (A), tissu mou (B), tissu mou après injection de produit de contraste iodé (C), montrant un fibrosarcome maxillaire chez un chien. On observe une lyse osseuse marquée et mal délimitée de l'os maxillaire droit (\*) par une masse d'atténuation tissulaire (flèche rouge) et à rehaussement hétérogène (flèche bleue).

Le bilan d'extension comprend un examen clinique de la cavité buccale et des nœuds lymphatiques régionaux, un CT de la tête et du cou, des radiographies thoraciques (3 projections) ou un CT thoracique. Le CT étant désormais largement disponible, il est généralement préféré à la radiographie pour évaluer l'étendue de l'infiltration de la tumeur primaire. Il permet également d'évaluer l'envahissement du squelette et facilite la planification chirurgicale. Par ailleurs, le CT thoracique est plus sensible que la radiographie pour détecter les métastases pulmonaires (Ghirelli *et al.* 2013). En outre, le CT permet d'évaluer les nœuds lymphatiques locaux non palpables (rétropharyngés médiaux et parotidiens en particulier). Ce bilan d'extension est utilisé pour obtenir le stade de la maladie cancéreuse, selon la méthode TNM (Figure 5). Cette méthode permet de standardiser l'évaluation de la taille de la tumeur primaire (T), d'une adénomégalie régionale (N), et la présence ou l'absence de métastases à distance (M). Cependant, une étude récente a montré que le CT a une faible sensibilité dans la détection des métastases ganglionnaires des tumeurs de la tête chez le chien, en particulier pour les micrométastases (Skinner *et al.* 2018). La mesure du petit axe inférieure à 10,5 mm est la plus prédictive de l'absence de métastase. Le CT associé à une lymphangiographie permet d'identifier les nœuds lymphatiques sentinelles et est également devenue une technique très populaire qui permet de détecter les nœuds lymphatiques drainant la tumeur (Grimes *et al.* 2017). Cependant, les résultats de lymphangiographie seuls ne permettent pas de prédire la présence de métastases (Goldschmidt *et al.* 2023), et le prélèvement cytologique ou histopathologique des nœuds lymphatiques reste l'examen de choix. Par ailleurs, une proportion non négligeable des chiens présente des métastases régionales au sein des nœuds lymphatiques controlatéraux à la lésion (Skinner *et al.* 2017). L'IRM peut également être utilisée pour le bilan d'extension locorégional, car elle est supérieure au CT dans l'évaluation des tissus mous (Johnson *et al.* 2016, Griffin *et al.* 2020, Lee *et al.* 2021).

<b>T — Primary tumor</b>	
T <sub>is</sub>	Preinvasive carcinoma (carcinoma in situ)
T <sub>0</sub>	No evidence of tumor
T <sub>1</sub>	Tumor < 2 cm maximum diameter
	T <sub>1a</sub> without bone invasion
	T <sub>1b</sub> with bone invasion
T <sub>2</sub>	Tumor 2 cm to 4 cm maximum diameter
	T <sub>2a</sub> without bone invasion
	T <sub>2b</sub> with bone invasion
T <sub>3</sub>	Tumor > 4 cm maximum diameter
	T <sub>3a</sub> without bone invasion
	T <sub>3b</sub> with bone invasion
<b>N — Regional Lymph Nodes (RLN)*</b>	
N <sub>0</sub>	No evidence of RLN involvement
N <sub>1</sub>	Moveable ipsilateral nodes
	N <sub>1a</sub> nodes not considered to contain growth **
	N <sub>1b</sub> nodes considered to contain growth **
N <sub>2</sub>	Movable contralateral or bilateral nodes
	N <sub>2a</sub> nodes not considered to contain growth **
	N <sub>2b</sub> nodes considered to contain growth **
N <sub>3</sub>	Fixed nodes
<b>M — Distant Metastasis</b>	
M <sub>0</sub>	No evidence of distant metastasis
M <sub>1</sub>	Distant metastasis (including distant nodes) detected

\* The RLN are the cervical, submandibular, and parotid nodes

\*\* (-) — histologically negative, (+) — histologically positive

**Figure 5** : Stades TNM de maladie cancéreuse classiquement utilisés pour les tumeurs oro-faciales

Les facteurs pronostiques des tumeurs oro-faciales varient en fonction du type de tumeur et des études. Peu d'études ont comparé le TMS de chiens atteints des différents types de tumeurs oro-faciales mais il semblerait que le SCC non-amygdalien, en particulier chez les jeunes chiens, ait un meilleur pronostic que les FS, OS et MM (Kosovsky *et al.* 1991, Wallace *et al.* 1992, Sarowitz *et al.* 2017, Riggs *et al.* 2018). Concernant les facteurs pronostiques non liés au type de traitement, un bas grade histologique, un stade clinique bas, une tumeur de petite taille, l'absence de métastases, une localisation rostrale de la tumeur, une localisation mandibulaire plutôt que maxillaire ou faciale, et l'absence de lyse osseuse en imagerie ont tous été associés à un meilleur pronostic (Proulx *et al.* 2003, Selmic *et al.* 2014, Tuohy *et al.* 2014, Coyle *et al.* 2015, Kawabe *et al.* 2015, Mestrinho *et al.* 2017, Sarowitz *et al.* 2017, Carroll *et al.* 2020, Simčič *et al.* 2020, Turek *et al.* 2020, Kim *et al.* 2021, Baja *et al.* 2022). En ce qui concerne le SCC, une faible inflammation associée à la tumeur semblerait également être un facteur pronostique positif (Fulton *et al.* 2013). L'âge et le sexe du chien ont également été épisodiquement associés au pronostic (Tuohy *et al.* 2014, Sarowitz *et al.* 2017).

### 1.1.1. La radiothérapie dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien

Contrairement aux tumeurs sino-nasales et intracrâniennes, le traitement de choix des tumeurs oro-faciales est l'excision chirurgicale (Fulton *et al.* 2013, Farcas *et al.* 2014, Martano *et al.* 2018). Cependant, l'obtention de marges saines n'est pas toujours possible ou prévisible avant l'intervention chirurgicale, et certaines tumeurs sont trop larges ou infiltrantes pour être complètement excisées (Grier *et al.* 2007). La plupart des études ont partiellement décrit des sous-populations de chiens ayant reçu de la RT en traitement adjuvant des tumeurs oro-faciales (Freeman *et al.* 2003, Proulx *et al.* 2003, Kawabe *et al.* 2015, van der Steen *et al.* 2021, Baja *et al.* 2022).

Les études dans lesquelles les populations de chien ayant reçu de la RT ont été décrites en détail sont présentées dans le Tableau 10. Ces études décrivent un TMS allant de 171 à 363 jours (121,5 jours avec traitement par orthovoltage). Les protocoles de RT, planification du traitement et machines étaient très différentes d'une étude à l'autre et difficilement comparables. Une étude sur des chiens atteints de MM a comparé 2 protocoles de RT palliative à 36 Gy en fractions de 6 Gy une ou deux fois par semaine et n'a pas trouvé de différence de TMS ou de radio-toxicité entre les deux protocoles (Baja *et al.* 2022). Une récente étude décrit l'utilisation du vaccin contre le mélanome (ONCEPT) sur une large population de chiens atteints de MM, dont 71 ont reçu de la RT (machines et protocoles variés). Les auteurs ont conclu que l'administration de RT avait un effet protecteur contre la progression tumorale (Turek *et al.* 2020).

Concernant le FS oral, une étude décrit 8 chiens ayant reçu un protocole de RT adjuvante (4MV), principalement définitive (48 Gy en 16 fractions journalières). L'addition de la RT n'a pas démontré d'intérêt pronostique dans cette étude, mais la petitesse de la population et le biais de recrutement des chiens ayant reçu de la RT (stades avancés) rendent impossible toute conclusion (Frazier *et al.* 2012). Dans une autre étude, les auteurs ont conclu que dans leur sous-population de 17 chiens atteints de FS oral ayant reçu de la RT adjuvante, la combinaison de marges étroites ou incomplètes et RT est associée à des TMS nettement plus faibles, par rapport aux temps de survie des chiens dont les marges chirurgicales étaient saines (Riggs *et al.* 2018).

Peu d'études ont décrit l'utilisation de la RT sur les SCC oraux. Une étude décrit 12 chiens atteints de SCC oral ayant reçu un protocole de RT adjuvante (linac sans MLC) et conclu que les chiens dont les marges chirurgicales étaient étroites ou incomplètes mais qui n'ont pas reçu de RT étaient significativement plus susceptibles de mourir pour des raisons liées à la tumeur que les chiens dont les marges chirurgicales étaient incomplètes et qui ont reçu une RT. Le TMS des chiens ayant reçu une RT était de 2051 jours (Riggs *et al.* 2018).

Une série de cas sur 10 chiens atteints de SCC papillaire à localisation rostrale au sein de la cavité buccale est présentée dans le Tableau 10, et illustre une bonne sensibilité des SCC oraux aux radiations (van der Steen *et al.* 2021).

Deux études plus anciennes, l'une portant sur 14 chiens traités avec un protocole RT définitif par mégavoltage, et l'autre sur 33 chiens traités par orthovoltage (protocole MWF, doses variées), rapportent un TMS de 450 jours pour la première, et des TMS de 732 et 204 jours en fonction du protocole pour la seconde (Evans & Shofer 1988, LaDue-Miller *et al.* 1996).

Enfin, peu d'études décrivent l'utilisation de la RT palliative dans le traitement des OS oro-faciaux, et les populations décrites incluent non seulement des traitements variés, mais également des localisations variées des OS (Dickerson *et al.* 2001, Selmic *et al.* 2014). Dans une étude, 12 chiens ayant reçu un protocole palliatif de RT (cobalt-60, planification manuelle) ont eu un TMS de 79 jours. Dans cette même étude, le TMS de 8 chiens ayant reçu un protocole définitif de RT était de 265 jours. Cette différence de survie entre la radiothérapie palliative et la radiothérapie définitive dans cette population était statistiquement significative (Dickerson *et al.* 2001). La seconde étude décrit 12 chiens ayant reçu un protocole palliatif de RT (protocoles variés), 18 chiens (15 SRT) ayant reçu un protocole définitif de RT et 7 chiens un protocole définitif de RT après une chirurgie. Les TMS pour ces groupes étaient respectivement 97 jours, 132 jours et 162 jours, et inférieurs au TMS des chiens ayant reçu une chirurgie seule (329 jours) (Selmic *et al.* 2014). Cependant, les auteurs suspectent un biais de sélection car les tumeurs traitées par RT étaient significativement plus larges, et possiblement inopérables.

En termes de radiotoxicité, les effets décrits dans le traitement des tumeurs oro-faciales sont similaires à ceux décrits pour les tumeurs nasales (Poirier *et al.* 2006, Kawabe *et al.* 2015, Nemec *et al.* 2015, Turek *et al.* 2020, Baja *et al.* 2022). Il semblerait que l'addition d'une RT adjuvante augmente l'incidence des complications post-opératoires (Cray *et al.* 2021). L'incidence des effets tardifs, tels qu'une ostéonécrose ou une fistule, était de 7,6 % dans une étude sur une large population (Théon *et al.* 1997).

Une série de cas décrit une ostéonécrose mandibulaire et maxillaire chez les chiens traités en RT pour une tumeur orale, avec un temps d'apparition entre 2 et 44 mois après traitement. Dans cette étude, la planification RT était manuelle avec des faisceaux de photons unique ou parallèles opposés (Nemec *et al.* 2015).

Article	Nombre de chiens	Source de RT	Planification RT	Protocole RT	Traitement associé†	TMS (jours)
<b>Baja et al. 2022</b>	101 MM	Linac 6 MV	Images CT IMRT	36 Gy en 6 fractions (1 ou 2 fois par semaine)	100 % chirurgie avant RT 80 % vaccin ou chiomiothérapie	232
<b>Kawabe et al. 2015</b>	111 MM	Orthovoltage (68 chiens) Linac 4 MV (39 chiens)	Images CT 3DCRT	Variés 6,3-74,3 Gy (median 37,8 Gy)	Chirurgie (18 chiens) Chimiothérapie (39 chiens) ou les deux (27 chiens)	171 (121,5 orthovoltage) (233 MV)
<b>Freeman et al. 2003</b>	39 MM	Cobalt-60 ou Linac 4 MV	Images radiographiques ou CT	36 Gy en 6 fractions quotidiennes	100 % chirurgie (excision incomplète) 100 % chimiothérapie (dérivé platiné)	363
<b>Proulx et al. 2003</b>	140 MM	Cobalt-60	Manuelle ou CT	36 Gy (4 x 9 Gy) ou 30 Gy (3 x 10 Gy) ou 245 Gy (12-19 x 2-4 Gy)	57 % chimiothérapie	210
<b>van der Steen et al. 2021</b>	10 SCC (rostraux)	Linac – faisceau d'électrons	Manuelle	32-51,2 Gy (médiane 48 Gy), 10-16 fractions quotidiennes	Aucun	TMS non atteint

**Tableau 10** : Comparaison des données de la littérature vétérinaire sur les effets de la radiothérapie dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien

† AINS et traitements antibiotiques non inclus.

TMS : temps médian de survie. Quand spécifié en mois, approximation en jours par multiplication par 30.5

3DCRT : tridimensional conformational radiation therapy

CT : computed tomography

Gy : Gray

Linac : linear accelerator

MV : megavolt

RT : radiothérapie

### 1.1.2. La chirurgie dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien

L'exérèse chirurgicale, lorsqu'elle est possible, est largement considérée comme le traitement de choix des tumeurs oro-faciales du chien, avec ou sans traitement adjuvant (Frazier *et al.* 2012, Fulton *et al.* 2013, Boston *et al.* 2014, Sarowitz *et al.* 2017, Riggs *et al.* 2018, de Mello Souza *et al.* 2019, Turek *et al.* 2020, Sharma *et al.* 2021). Le TMS des chiens atteints de SCC oral ne recevant pas de traitement est de 54 jours (Fulton *et al.* 2013).

De nombreuses techniques chirurgicales ont été décrites dans la littérature vétérinaire, avec pour but l'excision tumorale la plus large possible tout en minimisant la morbidité et les conséquences esthétiques de la mandibulectomie et maxillectomie. Elles consistent à exciser tout ou partie de la mandibule ou de l'os maxillaire. Pour la majorité des types de tumeurs oro-faciales, les études ont permis de corréler la présence de marges chirurgicales saines et le pronostic, et il est généralement admis que des marges de 1 à 2 cm (tissus mous) et 2 à 3 cm (os) sont satisfaisantes (Soukup *et al.* 2013, Boston *et al.* 2014, Tuohy *et al.* 2014). Concernant le MM oral, de nombreuses études ont analysé le TMS après traitement chirurgical seul, qui varie entre 173 et 1020 jours (Kosovsky *et al.* 1991, Wallace *et al.* 1992, Ramos-Vara *et al.* 2000, Esplin *et al.* 2008, Grosenbaugh *et al.* 2011, Boston *et al.* 2014, Tuohy *et al.* 2014, Sarowitz *et al.* 2017). Les TMS reportés par les études sur le MM oral traité par chirurgie seule sont présentés dans le Tableau 11.

Article	Nombre de chiens	Temps moyen de survie (jours)
<b>Sarowitz et al. 2017</b>	40	206
<b>Boston et al. 2014</b>	98	335
<b>Tuohy et al. 2014</b>	41	874
<b>Grosenbaugh et al. 2011</b>	53	324
<b>Esplin et al. 2008</b>	64	1020
<b>Ramos-Vara et al. 2000</b>	43	173
<b>Wallace et al. 1992</b>	23	273
<b>Kosovsky et al. 1991</b>	37	297

**Tableau 11** : Comparaison des données de la littérature vétérinaire sur le traitement chirurgical des chiens atteints de mélanome oral

En ce qui concerne le SCC oral, 5 études rapportent des TMS après excision chirurgicale : 576 jours (7 chiens), 532 jours (33 chiens), 780 jours, 1344 jours et 365 jours (15 chiens de plus de 10 ans) (Kosovsky *et al.* 1991, Wallace *et al.* 1992, Fulton *et al.* 2013, Kühnel & Kessler 2014, Sarowitz *et al.* 2017). Dans d'autres études le TMS n'a pas pu être atteint, mais ces études décrivent un temps médian

de suivi de 1556 jours pour l'une, et un temps médian sans progression de 1047 jours (Riggs *et al.* 2018, Sharma *et al.* 2021), démontrant un bon pronostic après exérèse chirurgicale complète.

Cinq études ont décrit des TMS après exérèse chirurgicale de FS oral : 247 jours (25 chiens), 557 jours (48 chiens, sans différenciation entre traitement chirurgical seul ou avec RT adjuvante), 1024 jours (21 chiens), 318 jours et 366 jours (15 chiens) (Kosovsky *et al.* 1991, Wallace *et al.* 1992, Frazier *et al.* 2012, Sarowitz *et al.* 2017, Riggs *et al.* 2018).

Enfin, les TMS des chiens présentant un OS oral et traités par chirurgie seule tels que présentés dans la littérature sont : 209 jours (34 chiens), 525 jours (50 chiens, sans différenciation entre traitement chirurgical seul ou avec chimiothérapie adjuvante), 239 jours, 408 jours (20 chiens) et 138 jours (Kosovsky *et al.* 1991, Wallace *et al.* 1992, Selmic *et al.* 2014, Coyle *et al.* 2015).

Il apparaît dans les études que, quelle que soit le type de tumeur, le facteur pronostique le plus significatif lié à l'intervention chirurgicale est le caractère complet ou non de l'exérèse (Sarowitz *et al.* 2017).

Différentes études se sont penchées sur les complications et la qualité de vie des chiens qui ont subi une exérèse chirurgicale de tumeur orale. En termes de qualité de vie telle que perçue par les propriétaires, les études ont montré que 85 à 90 % des propriétaires étaient satisfaits par le résultat de l'intervention chirurgicale, même si 29 à 44 % des chiens présentait selon eux des difficultés à la préhension des aliments ou de l'eau. La quasi-totalité des propriétaires étaient également satisfaits par l'apparence de leur chien. Il semblerait que la satisfaction des propriétaires soit meilleure après une mandibulectomie rostrale qu'après une maxillectomie partielle (Fox *et al.* 1997, Sarowitz *et al.* 2017, Bull *et al.* 2023).

Les complications péri-opératoires et post-chirurgicales lors de maxillectomie et de mandibulectomie sont relativement fréquentes, décrites entre 16.2 et 37.3 % des chiens opérés, avec une majorité de complications mineures, dans 58 à 62 % des cas (Sarowitz *et al.* 2017, Cray *et al.* 2021). La vaste majorité des complications se déroulent pendant la période péri-opératoire et incluent des hémorragies (dont 43 % ont nécessité une transfusion sanguine dans une étude), un épistaxis, un gonflement exagéré de la face et des difficultés à s'alimenter. Les complications les plus fréquentes se produisant à partir de 48h après l'intervention chirurgicale sont un traumatisme des babines, une fistule oro-nasale, une déhiscence de plaie et une infection (MacLellan *et al.* 2018). La mandibulectomie tend à entraîner plus de dérive mandibulaire et de malocclusion, alors que la maxillectomie entraîne plus de déhiscence de plaie, de fistule et d'hémorragie péri-opératoire (Cray *et al.* 2021). Une étude a mis en évidence une incidence plus élevée des complications lors de maxillectomie, en localisation caudale et pour les tumeurs de grande taille (MacLellan *et al.* 2018). Une seconde étude a corrélé positivement la taille de la tumeur et la localisation maxillaire à l'incidence des hémorragies, mais également le temps opératoire avec l'incidence de complications en général (Cray *et al.* 2021).

### 1.1.3. La chimiothérapie et la vaccination thérapeutique dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien

L'usage de la chimiothérapie adjuvante dans le traitement des tumeurs oro-faciales du chien, en particulier du MM, a été décrit dans la littérature vétérinaire. Cependant, la grande majorité des études décrit des traitements multiples et variés associant chirurgie, RT et chimiothérapie, et incluant souvent des protocoles et agents chimiothérapeutiques variés. Comme pour la RT, une étude récente a rapporté une augmentation de l'incidence des complications post-opératoires sur une population de chiens présentant des tumeurs oro-faciales variées traitées par chirurgie lorsqu'un protocole de chimiothérapie adjuvante y était associé (Cray *et al.* 2021).

Cette partie traitera de la chimiothérapie conventionnelle, mais également de l'usage des anti-inflammatoires non-stéroïdiens et de la vaccination thérapeutique. D'autres traitements innovants tels que la thérapie génique, l'électrochimiothérapie à la bléomycine, ou encore l'immunothérapie ont été décrits, notamment dans le cas du MM, mais ne seront pas développés (Pazzi *et al.* 2022).

Dans le cas du MM, deux études n'ont pas permis de mettre en évidence de différences significatives chez les chiens ayant subi uniquement une chirurgie (TMS de 495 et 335 jours) par rapport aux chiens ayant subi une chirurgie suivie d'une chimiothérapie à la carboplatine (TMS de 389 et 352 jours) (Brockley *et al.* 2013, Boston *et al.* 2014). Une autre étude utilisant de la carboplatine après exérèse chirurgicale rapporte un TMS de 440 jours. Cette même étude n'a pas mis en évidence de corrélation entre la dose de carboplatine et le pronostic (Dank *et al.* 2014).

Le masitinib, le cisplatine en association avec le piroxicam, et le cisplatine intra-lésionnel, ont tous trois donné lieu à ce qui semble être des TMS plus faibles (119, 119 et 116 jours, respectivement) (Kitchell *et al.* 1994, Boria *et al.* 2004, Giuliano *et al.* 2020), mais la survie dans ces études a été calculée le plus souvent chez des chiens présentant des tumeurs non résecables ou après une maladie récidivante. La majorité des chiens dans ces trois études ont été opérés (ou ont subi une autre intervention) avant la chimiothérapie, et le temps écoulé entre la chirurgie et la chimiothérapie n'a pas été pris en compte dans le TMS.

D'autres études décrivent une combinaison de RT et de chimiothérapie en traitements adjuvants, et ont été présentés dans le Tableau 10 (Proulx *et al.* 2003, Kawabe *et al.* 2015).

La majorité des effets indésirables liés à la chimiothérapie systémique ont été décrits comme légers ou modérés, et presque tous ont été auto-résolutifs. La carboplatine semble avoir les effets indésirables les plus sévères, qui comprennent des effets gastro-intestinaux (vomissements ou des diarrhées), ou des toxicités hématologiques telles qu'une neutropénie et une thrombocytopénie (Rassnick *et al.* 2001, Brockley *et al.* 2013, Dank *et al.* 2014). La cisplatine en intra-lésionnel a été associée à une nécrose au site d'implantation et à des ulcérations buccales (Kitchell *et al.* 1994).

Le principe de la vaccination thérapeutique est d'enseigner au système immunitaire la reconnaissance des antigènes spécifiques de la tumeur. Les vaccins tumoraux à cellules entières et les vaccins à ADN

représentent les stratégies de vaccination les plus largement adoptées pour le traitement du MM oral canin (Almela *et al.* 2019).

Seules deux études ont évalué l'efficacité du vaccin Oncept™ en tant que traitement adjuvant à la chirurgie et n'ont pas trouvé d'avantages en termes de survie, avec des TMS chez les chiens ayant reçu une vaccination adjuvante allant de 335 à 485 jours, alors que les chiens ayant uniquement subi une chirurgie ont montré des TMS de 352 à 585 jours (Ottnod *et al.* 2013, Boston *et al.* 2014).

Les études incluant des traitements adjuvants multiples, telles que la RT, la chimiothérapie ou les inhibiteurs de tyrosine kinase, ont rapporté des TMS de 335 à 455 jours chez les chiens atteints d'une maladie de stade I à III (Treggiari *et al.* 2016, Verganti *et al.* 2017, Turek *et al.* 2020).

En ce qui concerne le SCC, dans une série de cas décrivant 17 chiens traités par du piroxicam seul, le taux de réponse était de 17%, avec une réponse complète et deux réponses partielles (Schmidt *et al.* 2001). Dans une série de neuf chiens traités avec du piroxicam et de la cisplatine, le TMS était de 237 jours. Cependant, une toxicité rénale est apparue chez 41% des chiens de cette étude, limitant l'utilité clinique de ce protocole (Boria *et al.* 2004). Dans une autre série de sept chiens atteints de SCC oral au stade T3 traités par piroxicam et carboplatine, une réponse complète a été observée chez 57 % des chiens, avec des TMS allant de 187 à 888 jours (De Vos *et al.* 2005).

Le rôle de la chimiothérapie dans la prise en charge des chiens atteints de FS ou d'OS buccal est controversé car la récurrence locale est la cause la plus fréquente des décès liés à la tumeur. Cependant, la chimiothérapie adjuvante permet d'obtenir des intervalles sans métastase et des temps de survie plus longs dans une étude portant sur des chiens atteints d'OS mandibulaire (Coyle *et al.* 2015).

En conclusion, les preuves de l'intérêt d'une chimiothérapie adjuvante à la chirurgie sont faibles pour les tumeurs oro-faciales du chien. Cependant, la chimiothérapie seule, en cas de tumeur non-résécable, pourrait présenter un intérêt.

## **2. Place de l'imagerie en coupe dans l'évaluation de la réponse au traitement et le suivi des tumeurs de la tête chez le chien**

Comme précédemment décrit, le CT et l'IRM sont au centre du diagnostic des tumeurs de la tête chez le chien, que ce soit dans l'aide à la localisation et la caractérisation des lésions, à la détermination du stade clinique, mais aussi dans une moindre mesure en tant qu'aide à la détermination du grade des gliomes. Ces modalités d'imagerie en coupe permettent également une planification du traitement chirurgical ou RT. Cependant, peu de critères d'imagerie au-delà de la taille et de la localisation de la tumeur, qui vont souvent avoir des conséquences directes sur sa résécabilité, présentent un intérêt pronostique (van Rijn *et al.* 2016, Simčič *et al.* 2020, Kim *et al.* 2021, Lee *et al.* 2021, Czichon *et al.* 2022). Cette partie traitera de l'utilisation de l'imagerie en coupe conventionnelle dans l'évaluation de la réponse au traitement et le suivi des tumeurs de la tête chez le chien.

En oncologie humaine comme vétérinaire, il est impératif que la méthode d'évaluation de la réponse au traitement soit standardisée, afin d'homogénéiser les études scientifiques et de permettre des études multicentriques, mais surtout répétibles. En 2000 puis en 2009, les critères d'évaluation de la réponse aux tumeurs solides (RECIST) ont été publiés dans le but de simplifier le processus d'évaluation de la réponse tumorale et de réduire la variabilité des mesures répétées (Eisenhauer *et al.* 2009). En 2015, une version canine a vu le jour, et est devenue la méthode officielle d'évaluation de la réponse au traitement des tumeurs solides du chien (Nguyen *et al.* 2015).

La méthode RECIST peut s'appliquer à toute technique d'imagerie dans la mesure où la même modalité est utilisée au cours des contrôles répétés, mais l'utilisation de l'imagerie en coupe est conseillée, du fait de sa capacité à la dé-superposition des structures et l'absence de distorsion des structures en fonction de la technique d'acquisition. Il est également conseillé que le même opérateur réalise les mesures séquentielles sur un même chien. Les mesures de base doivent être réalisées au plus tôt 2 semaines avant le début du traitement afin d'éviter une progression significative de la tumeur entre les mesures et le début du traitement. Il est conseillé de réaliser les mesures suivantes environ toutes les 6 à 8 semaines (Nguyen *et al.* 2015).

Cette méthode est basée sur la mesure de la plus grande dimension de la tumeur primaire. Au contrôle, une disparition de la lésion est considérée comme une rémission complète, et une diminution égale ou supérieure à 30 % est considérée comme une rémission partielle. Une diminution de moins de 30 % ou une augmentation de moins de 20 % de la taille de la tumeur est considérée comme une maladie stable, alors qu'une augmentation de taille égale ou supérieure à 20 % est considérée comme une maladie progressive. Par ailleurs, toute apparition d'une lésion tumorale secondaire est automatiquement considérée comme une maladie progressive, quelle que soit la modification de taille de la tumeur primaire. Dans le cas où le chien présente plusieurs lésions tumorales, la somme de la plus grande dimension de chaque lésion (maximum 5 au total et maximum 2 par organe) est utilisée en ligne de base comme en suivi. Il est également important de noter que pour les suivis multiples, les mesures lors des contrôles doivent être confrontées aux mesures de base, et non à celles du contrôle précédent (Nguyen *et al.* 2015).

Une seconde méthode a été décrite en neuro-oncologie humaine, conçue pour remédier aux limites spécifiques de la méthode RECIST dans l'évaluation par IRM des gliomes de haut grade. Le système d'évaluation de la réponse en neuro-oncologie (RANO) repose sur la mesure bidimensionnelle du diamètre des lésions rehaussantes (produits de la somme des diamètres), mais excluant spécifiquement les zones kystiques ou nécrotiques. Le système RANO spécifie que les lésions rehaussantes ne doivent être mesurées que dans les cas où une partie « solide » de taille supérieure ou égale à 10 mm peut être mesurée sans inclure de zones kystiques ou nécrotiques. Par ailleurs, les valeurs limites de modification de taille en vue de classer une maladie (en rémission, stable, progressive) sont sensiblement différentes de celles de la méthode RECIST. Ainsi, une diminution d'au moins 50 % de la somme des diamètres de la lésion est nécessaire pour parler de rémission, et une augmentation supérieure ou égale à 25 % permet

de déclarer la maladie comme progressive. Toute nouvelle lésion entraîne également une classification en maladie progressive (Rossmeisl 2014). Cette méthode pourrait également être appliquée en neuro-oncologie vétérinaire (RAVNO), dont les tumeurs intracrâniennes contiennent régulièrement des zones cavitaires. Cette méthode n'est en revanche faisable que sur les tumeurs intracrâniennes présentant un rehaussement, ce qui n'est pas toujours le cas (Snyder *et al.* 2006).

Des méthodes d'analyse volumétrique des tumeurs ont également été testées en médecine humaine comme en médecine vétérinaire, mais ne semblent pas apporter de bénéfice significatif et sont plus complexes et longues à appliquer en routine (Rossmeisl 2014, Thomson *et al.* 2016, Nell *et al.* 2020, Garcia Mora *et al.* 2022). L'utilisation de mesures automatiques assistées par ordinateur ou l'intelligence artificielle permettra peut-être dans le futur d'utiliser des techniques de suivi plus précises que les méthodes actuelles.

Que ce soit la méthode RECIST ou la méthode RAVNO, toutes deux sont basées sur une évaluation morphologique des tumeurs. Cependant, les thérapies cytostatiques n'entraînent pas nécessairement de changements significatifs dans la taille de la tumeur. Il est donc possible que l'évaluation de la réponse au traitement doive être basée sur des critères d'imagerie à la fois morphologiques et physiologiques (fonctionnels). L'utilisation de séquences CT et IRM conventionnelles pour quantifier la charge tumorale est également compliquée par les effets de potentiels traitements antérieurs (Rossmeisl *et al.* 2014). Dans certains cas, la différenciation entre des anomalies induites par un traitement et des altérations de la charge tumorale nécessite une biopsie, souvent difficile à réaliser en pratique vétérinaire (Rossmeisl *et al.* 2014).

### **3. Perfusion tumorale et imagerie médicale**

#### **3.1 Implications cliniques de la vascularisation et de la perfusion tumorale**

Pendant des décennies, la recherche visant à améliorer les résultats de la RT s'est concentrée presque entièrement sur la cellule cancéreuse elle-même, ignorant les interactions biologiques complexes entre la tumeur et le stroma dans lequel elle se développe, c'est à dire le microenvironnement tumoral. En conséquence, la radiobiologie classique a largement ignoré que les effets de la RT sur le microenvironnement tumoral et les réponses qui y sont déclenchées peuvent être déterminants pour le succès ou l'échec de la thérapie. Au cours des deux dernières décennies, cette vision radiobiologique étroite a évolué pour reconnaître l'importance centrale du microenvironnement tumoral (Barker *et al.* 2015).

Les vaisseaux sanguins normaux sont très structurés, organisés et spécialisés, assurant une bonne perfusion des tissus. A l'inverse, les vaisseaux tumoraux sont souvent tortueux, non étanches, dilatés et désorganisés (Boucher *et al.* 1997). L'immaturation vasculaire et l'absence de cellules murales entraînent une perméabilité excessive des vaisseaux, qui elle-même entraîne une mauvaise perfusion et une

hypoxie accrue des tissus environnants. En outre, les tumeurs présentent un degré élevé d'hétérogénéité vasculaire, avec des sites hypervasculaires et d'autres régions à faible densité de vaisseaux. Ensemble, la perméabilité des vaisseaux sanguins tumoraux et les réseaux lymphatiques locaux, peu ou non fonctionnels, augmentent la pression du liquide interstitiel, ce qui désorganise la pression vasculaire, participant également à l'hypoxie (Jain *et al.* 2014). La compression des vaisseaux sanguins par la croissance cellulaire tumorale limite également la perfusion. Toutes ces caractéristiques du micro-environnement tumoral entraînent une diminution de l'apport en oxygène et en nutriments, c'est-à-dire un microenvironnement hypoxique, qui favorise la sélection de clones capables de résister à ces conditions difficiles (Jain *et al.* 2014). Ces cellules tumorales adaptées à un environnement inhospitalier présentent souvent un phénotype plus agressif, ce qui accroît leur potentiel métastatique (Reymond *et al.* 2013). Par ailleurs, cette hypoxie tumorale favorise également l'angiogenèse tumorale (Jain *et al.* 2007).

Les anomalies vasculaires tumorales ont un impact direct sur les cellules tumorales, en réduisant leur oxygénation par exemple, mais nuisent également à l'efficacité des traitements anti-cancéreux (Vaupel *et al.* 2004, Viallard & Larrivé 2017). La RT expose les cellules cancéreuses à des rayonnements ionisants de haute énergie, ce qui entraîne la production d'espèces réactives de l'oxygène dans un micro-environnement aérobie, qui à son tour induit des dommages létaux à l'ADN conduisant à la mort des cellules tumorales (Orth *et al.* 2014). La sensibilité aux radiations des cellules cancéreuses est corrélée au niveau d'oxygène, et l'efficacité du traitement est réduite dans des conditions hypoxiques (Busk & Horseman 2013). En effet, en raison de l'effet Oxygène, la dose de rayonnement nécessaire pour obtenir le même effet biologique est environ trois fois plus élevée en l'absence d'oxygène qu'en présence de niveaux normaux d'oxygène (Busk & Horseman 2013).

La chimiothérapie est également affectée par l'immaturation des vaisseaux tumoraux, car le collapsus des vaisseaux, l'interruption de la circulation sanguine et les zones hypoxiques hypoperfusées conduisent à l'exclusion de larges zones tumorales de l'exposition aux médicaments administrés par voie systémique. Les médicaments chimiothérapeutiques peuvent ne pas être en mesure d'atteindre certaines parties de la tumeur en quantités suffisantes, et leur efficacité est considérablement réduite (Jain 2014). En outre, les cellules hypoxiques ont tendance à être quiescentes, ce qui rend inefficaces les médicaments chimiothérapeutiques qui ciblent les cellules proliférantes (Cosse & Michiels 2008). Plusieurs médicaments couramment utilisés dans le traitement du cancer, comme la doxorubicine ou le méthotrexate, ont besoin d'oxygène pour pouvoir tuer les cellules tumorales (Sanna & Rofstad 1994).

Les effets de la RT sur les cellules et le microenvironnement tumoraux sont très variables et dépendent de la dose, du débit, de la taille des fractions, du nombre de fractions, ainsi que de facteurs inhérents à la tumeur tels que le type, le site et le stade (Park *et al.* 2012).

Les conclusions de la plupart des études sur les tumeurs humaines suivent une tendance générale selon laquelle le flux sanguin reste inchangé ou augmente légèrement pendant la période initiale de la RT fractionnée, mais diminue vers la fin des traitements (Mäntylä *et al.* 1982, Pirhonen *et al.* 1995, Mayr

*et al.* 1996, Lyng *et al.* 2000, Ng *et al.* 2007, Janssen *et al.* 2010). On peut supposer qu'au cours d'une RT fractionnée, les lits de la microvasculature tumorale deviennent progressivement non fonctionnels car les besoins en nutriments, y compris en oxygène, diminuent en raison de la mort des cellules tumorales induite par les radiations.

Les résultats et les conclusions des études menées sur des tumeurs de souris et de rats au cours des dernières décennies sont très variables (Park *et al.* 2012). Néanmoins, il semblerait qu'après une exposition unique à des doses modérément élevées de rayonnement, par exemple 5-10 Gy, le flux sanguin de la tumeur augmente dans un premier temps, revenant aux niveaux antérieurs à l'irradiation ou légèrement inférieurs à ceux-ci en 2 à 3 jours. Après une ou deux irradiations à 10-15 Gy/fraction, le flux sanguin tumoral diminue peu après l'irradiation, reste réduit pendant des périodes plus ou moins longues, par exemple de 1 à plusieurs jours, et revient occasionnellement aux niveaux de contrôle (Park *et al.* 2012). Dans la plupart des cas, après l'irradiation de tumeurs à des doses supérieures à 15-20 Gy en une seule exposition, le flux sanguin tumoral diminue rapidement, suivi d'une détérioration de la vascularisation à mesure que le volume de la tumeur diminue (Park *et al.* 2012). Une irradiation de 30 ou 60 Gy en une seule exposition a provoqué des diminutions marquées et durables du volume vasculaire fonctionnel ou de la vascularisation des tumeurs (Wong *et al.* 1973).

En ce qui concerne la perméabilité vasculaire, les études sur des tumeurs de Walker 256 ont montré une augmentation immédiate après l'irradiation dans toute la gamme de doses délivrées de 2 à 20 Gy, suivi d'un retour aux niveaux antérieurs à l'irradiation en 2 à 3 jours (Song *et al.* 1971, Song *et al.* 1972, Wong *et al.* 1973, Kobayashi *et al.* 2004).

La question de savoir si l'effet principal des rayonnements ionisants sur la destruction des tumeurs est de tuer directement les cellules cancéreuses ou indirectement les cellules cancéreuses par le biais de lésions vasculaires a fait l'objet d'un débat considérable (Park *et al.* 2012). Les changements de perfusion tumorale induits par l'irradiation sont directement liés à l'intégrité fonctionnelle et à la viabilité des cellules endothéliales vasculaires (Park *et al.* 2012). La mort des cellules endothéliales à la suite de lésions radiologiques directes dans les tumeurs irradiées entraînerait des lésions vasculaires microscopiques ou macroscopiques focales et, à terme, un dysfonctionnement et un effondrement des vaisseaux de type capillaire affectés (Song *et al.* 1974).

Il est probable que le déclin précoce de la vascularisation fonctionnelle après irradiation des tumeurs peut être causé, au moins en partie, par le collapsus des vaisseaux sanguins résultant de l'élévation de la pression du liquide interstitiel, due à l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux. L'étendue des lésions vasculaires dans les tumeurs traitées par irradiation fractionnée est inférieure à celle causée par des doses uniques élevées, conformément aux rapports d'autres chercheurs (Kobayashi *et al.* 2004, Chen *et al.* 2009). Il est probable que les lésions radiologiques sublétales des cellules endothéliales sont réparées pendant l'irradiation fractionnée et que l'intégrité fonctionnelle des vaisseaux tumoraux est donc moins altérée. Avec le temps, les vaisseaux sanguins irradiés deviennent plus épais, principalement en raison de l'épaississement de la couche intimale, et sont sujets à l'athérosclérose (Barker *et al.* 2015).

D'autres changements morphologiques tardifs peuvent survenir, notamment l'apparition de thromboses, de fibroses et de nécroses médianes (Barker *et al.* 2015).

On peut conclure de ces études que la contribution des lésions vasculaires radio-induites à la réponse des tumeurs aux rayonnements ne sera significative que lorsque les tumeurs sont irradiées à des doses suffisamment élevées pour provoquer des lésions vasculaires substantielles dans les tumeurs. Par conséquent, il est probable que la radiosensibilité des cellules endothéliales soit relativement insignifiante dans la radiothérapie fractionnée conventionnelle utilisant 1,5-2,0 Gy/fraction (Park *et al.* 2012). Sur la base des résultats des nombreuses études précliniques et cliniques, il peut être raisonnable de suggérer que la dose de rayonnement seuil en une seule exposition pour la mort indirecte des cellules tumorales (au travers de lésions vasculaires) dans la plupart des tumeurs humaines peut se situer entre 10 et 15 Gy (Park *et al.* 2012). Il convient de noter que la mort indirecte des cellules tumorales à la suite de lésions vasculaires n'est peut-être pas le seul mécanisme expliquant la réponse des tumeurs humaines à la SRT ou à la SRS. Il a été suggéré que l'irradiation locale à forte dose provoque des réactions immunitaires et éradique ainsi les cellules tumorales qui ont échappé à la mort induite par l'irradiation (Brown *et al.* 2008).

Récemment, il a été démontré que la RT fractionnée améliorerait considérablement la perfusion tumorale après deux semaines de traitement. Elle était associée à une meilleure viabilité des tissus et à une diminution de l'hypoxie (Kleibecker *et al.* 2016). Il a été suggéré que les thérapies anti-angiogéniques pourraient corriger les défauts structurels et fonctionnels des vaisseaux sanguins tumoraux, un processus appelé "normalisation vasculaire" (Jain 2001, Jain 2005). La normalisation de la vascularisation tumorale pourrait rétablir les fonctions des vaisseaux sanguins et empêcher les cellules cancéreuses d'acquiescer un phénotype agressif associé à un micro-environnement hypoxique (Jain 2014). En outre, une perfusion accrue de la tumeur augmenterait les bénéfices de la chimiothérapie et de la RT (Goel *et al.* 2011).

En pratique, la vascularisation tumorale peut être évaluée par immunohistochimie sur des échantillons de tissu tumoral obtenus par biopsie. Le nombre de micro-vaisseaux au sein du tissu tumoral permet une représentation de l'angiogenèse tumorale. La technique la plus répandue pour évaluer la néovascularisation tumorale est la quantification de la DMV intratumorale, en utilisant des marqueurs d'immunohistochimie spécifiques des cellules endothéliales tels que le facteur VIII, CD31, ou encore CD34 (Maiolino *et al.* 2001, Cuenod *et al.* 2006, Goh *et al.* 2008). Chaque marqueur présente des avantages et des inconvénients. A titre d'exemple, le facteur VIII est un marqueur très spécifique des cellules endothéliales, offrant un contraste très fort entre les micro-vaisseaux et les autres composants du tissu (Preziosi *et al.* 2004). Cependant, le facteur VIII est absent d'une partie de l'endothélium capillaire du tissu tumoral, et interagit également avec les cellules endothéliales des vaisseaux lymphatiques. Bien que les cellules tumorales n'induisent pas la formation de nouveaux vaisseaux lymphatiques, la coloration de vaisseaux lymphatiques préexistants peut entraîner des faux-positifs (Fanelli *et al.* 1999).

### 3.2 Corrélation entre vascularisation tumorale et scanner de perfusion

Avant l'avènement des méthodes d'imagerie capables de fournir une estimation non invasive de l'oxygénation des tissus, les études précliniques sur modèles animaux et les études cliniques en médecine humaine se basaient sur la pO<sub>2</sub> tumorale mesurée par Eppendor pour évaluer l'hypoxie tumorale (Jordan & Sonveaux 2012). L'évaluation histologique de l'angiogenèse tumorale par le biais de divers paramètres tels que la DMV est également limitée par l'hétérogénéité régionale des tumeurs, leur taille parfois petite, ainsi que par le nombre limité d'échantillons obtenus par biopsie. Par ailleurs, l'angiogenèse tumorale est un processus en constante évolution qui, comme vu précédemment, peut être affecté par le traitement. Par conséquent, l'imagerie de perfusion *in vivo* qui peut être répétée, contrairement aux procédures invasives telles que l'excision chirurgicale ou la biopsie, peut aider à évaluer l'évolution continue de la perfusion tumorale ainsi que la réponse au traitement (Jain 2011).

La relation entre l'angiogenèse tumorale et les paramètres physiologiques obtenus par scanner de perfusion (DCECT) est complexe (Cuenod *et al.* 2006). Des études en médecine humaine, établissant un lien entre l'évaluation histopathologique de l'angiogenèse et les paramètres DCECT, ont montré que le pic de rehaussement de la tumeur et le volume sanguin régional tendent à présenter la corrélation la plus étroite avec l'expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) et la DMV intra-tumorale pour de nombreux types de tumeurs, tels que les carcinomes à cellules squameuses de la tête et du cou, les cancers pulmonaires, colorectaux, et prostatiques, et les gliomes cérébraux (Goh *et al.* 2008, Ash *et al.* 2009, d'Assignies *et al.* 2009, Satoh *et al.* 2010, Jain 2011, Kim *et al.* 2012, Osimani *et al.* 2012, Qin *et al.* 2013, Luczynska *et al.* 2014). Cependant, les résultats des études sont inconstants.

## 4 Le scanner de perfusion

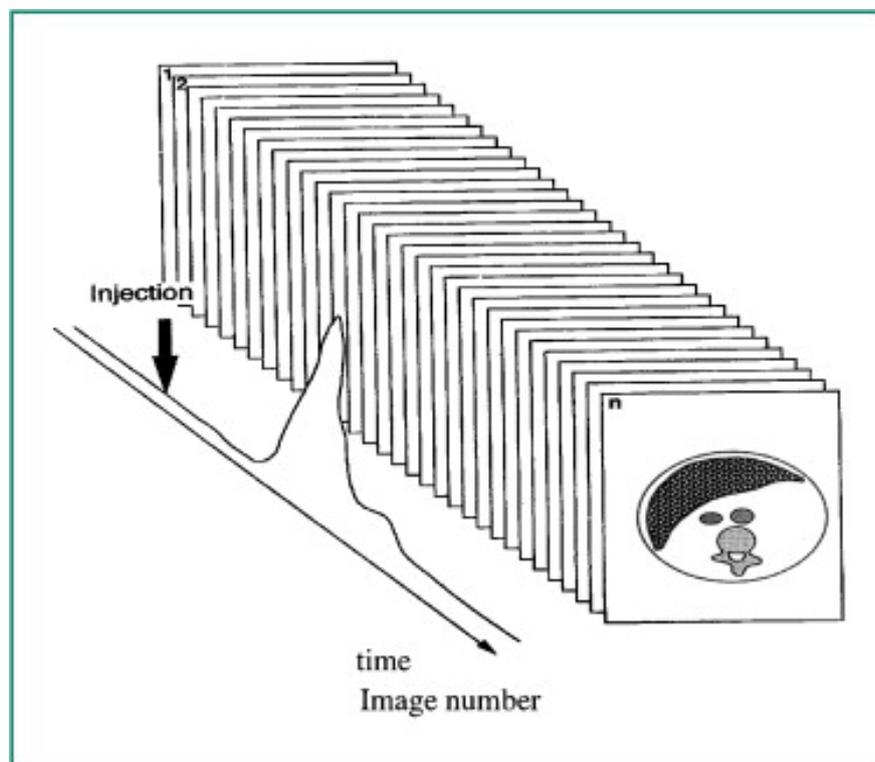
### 4.1 Principes physiques, techniques d'acquisition et d'analyse de perfusion

Le DCECT est une technique utilisée pour obtenir des informations sur le flux sanguin dans le réseau capillaire des tissus et sur la perméabilité vasculaire (Cuenod & Balvay 2013). La présence de produit de contraste iodé dans les tissus affecte l'atténuation des rayons X de manière linéaire. Le premier passage du produit de contraste dans le tissu correspond à la phase intravasculaire, à condition que la fuite vasculaire soit négligeable, tandis que la phase ultérieure reflète l'accumulation interstitielle et la recirculation (Miles *et al.* 2012).

Dans un premier temps, un CT à blanc (sans injection de produit de contraste) doit être acquis afin de localiser la tumeur et de sélectionner le volume sur lequel le DCECT doit être effectué. Ce volume est limité le long de l'axe z par le nombre de détecteurs du CT. Si le volume de la tumeur est supérieur au volume pouvant être inclus dans le champ d'acquisition, il convient d'identifier la section présentant

la surface visible maximale de la tumeur sur l'axe z, et de positionner le centre du volume d'étude de perfusion sur cette section.

Un produit de contraste iodé non ionique (tels que l'ioversol, l'iopamirol, ou encore l'iohexol) est utilisé à la dose de 150 à 300 mg d'iode par Kg (Miles *et al.* 2012). Le bolus est administré à une vitesse d'injection élevée (3-6 ml/s) à l'aide d'un injecteur, suivie de sérum physiologique à un débit similaire. Immédiatement après injection, le DCECT est amorcé, et consiste en une acquisition continue ou intermittente d'images du volume de tissu tumoral précédemment choisi (Figure 6). Pour les acquisitions séquentielles, où le DCECT est effectué à plusieurs reprises chez le même patient à différents moments du traitement, il est préférable d'administrer le produit de contraste par la même voie veineuse afin d'éviter une source possible de variation des paramètres de perfusion.



**Figure 6** : principe du scanner de perfusion. Un volume de tissu (une seule coupe sur l'image ci-dessus) est scanné en continu durant l'injection de produit de contraste iodé. La courbe à gauche ces coupes scanner représente la courbe temps-atténuation, illustrant le transit du produit de contraste iodé au sein des tissus et l'augmentation d'atténuation qui en découle (Cuenod *et al.* 2013).

Un DCECT réalisé lors du premier passage de produit de contraste dans le système vasculaire (jusqu'à 45-60 s après le début de l'administration du produit de contraste) nécessite une résolution temporelle élevée, entre 1 et 3 s (Kambadakone *et al.* 2009, Miles *et al.* 2012).

Une tension (80-100 kVp) et un courant (120-200 mA) relativement faibles sont recommandés pour diminuer la dose de rayons au patient. Enfin, une épaisseur de coupe d'au moins 5 mm est conseillée (Petralia *et al.* 2010).

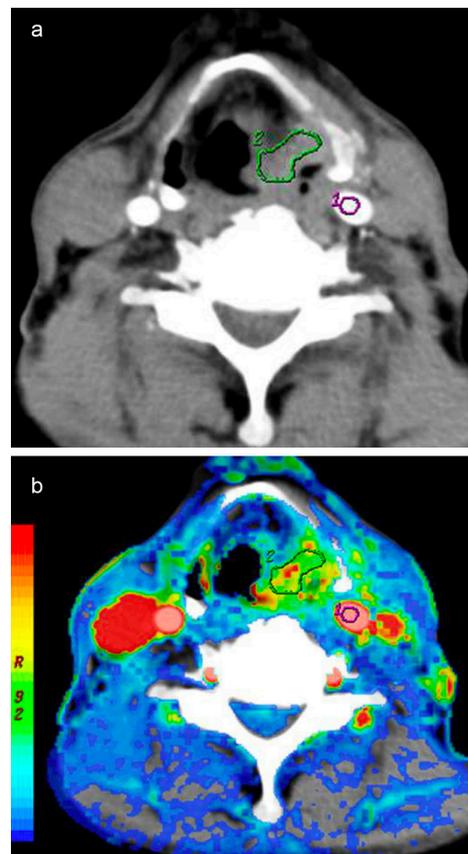
Les paramètres de perfusion sont calculés à l'aide de logiciels spécialisés. Certains logiciels sont disponibles dans le commerce, comme ceux de Siemens (Syngo Volume Perfusion CT), Philips (CT Perfusion package) et General Electric (CT Perfusion 4D). Ils sont donc largement disponibles dans de nombreux centres de radiologie humaine, et sont théoriquement fiables pour une utilisation en médecine humaine, car ils ont fait l'objet d'une validation avant d'être lancés sur le marché. D'autres logiciels ont été développés au sein de centres individuels et sont donc moins disponibles et n'ont pas fait l'objet d'une validation aussi large. Ces logiciels sont semi-automatiques dans la mesure où ils nécessitent l'intervention de l'opérateur pour placer la région d'intérêt et optimiser le processus, mais ils effectuent automatiquement l'analyse mathématique des données (Petralia *et al.* 2010).

Une fois les images chargées dans le logiciel, une fonction d'entrée artérielle (FEA) doit être choisie. Pour ce faire, une région d'intérêt doit être placée dans une zone correspondant à une artère incluse dans le volume d'acquisition (Petralia *et al.* 2010). C'est, en théorie, la condition idéale pour une analyse fiable de la perfusion, car la FEA est spécifique pour chaque patient et pour chaque examen effectué sur le même patient à différents moments. Cependant, la sélection de la FEA peut introduire une source de variabilité (Petralia *et al.* 2010). Par exemple, des différences significatives dans les paramètres de perfusion ont été notées chez des patients atteints de carcinome à cellules squameuses des voies respiratoires supérieures et des voies digestives lorsque la FEA était placée sur l'artère carotide externe droite ou gauche (Petralia *et al.* 2009). Une autre question est celle du choix de l'artère, qu'elle soit de gros calibre pour éviter les artefacts de flux dus à la tortuosité des vaisseaux ou de petit calibre parce qu'il s'agit d'un affluent direct de la tumeur. Les artefacts de flux dus à la tortuosité des vaisseaux sont considérés comme négligeables pour les artères d'un diamètre  $> 4-5$  mm, et aucune différence significative n'a été trouvée dans les paramètres de DCECT si la FEA est positionnée sur l'artère carotide externe ou interne chez les patients atteints de carcinome à cellules squameuses des voies digestives supérieures, qu'il s'agisse d'une artère tributaire ou non de la tumeur (Rumboldt *et al.* 2005). Enfin, la sélection de l'entrée artérielle doit éviter les artefacts de mouvement et de volume partiel, qui pourraient compromettre de manière significative la fiabilité de l'étude.

L'étape suivante consiste à entourer la région d'intérêt (ROI). Il s'agit de dessiner manuellement une zone d'intérêt le long des marges de la tumeur afin que le logiciel puisse quantifier les valeurs de perfusion à l'intérieur de cette zone. En plaçant la région d'intérêt, il faut veiller à ce qu'elle n'englobe pas les gros vaisseaux, l'air, l'os, ou le tissu adipeux environnant. Il est essentiel que la région d'intérêt soit placée à l'intérieur des marges tumorales sur toutes les images de DCECT. Par conséquent, les zones d'intérêt doivent être sélectionnées image par image, afin de s'assurer qu'elles ne dépassent pas les marges de la tumeur sur aucune coupe (Petralia *et al.* 2010).

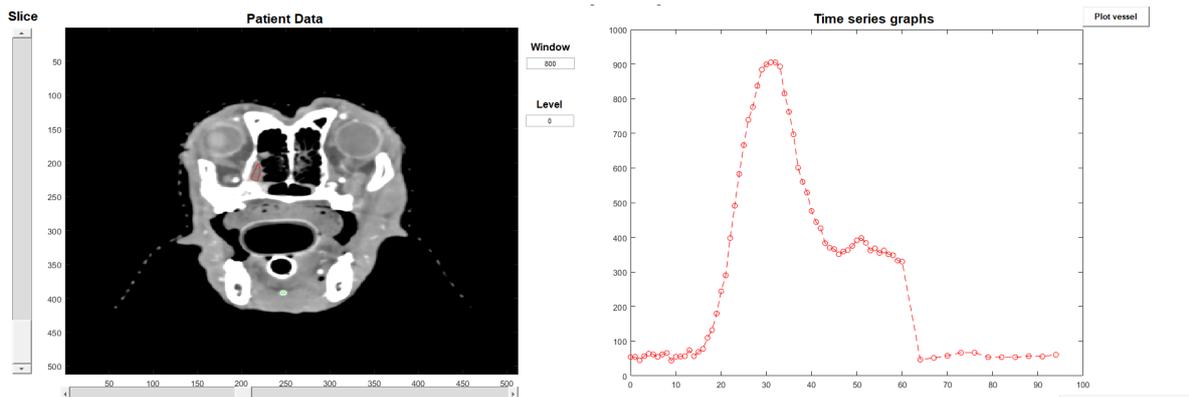
Il existe deux méthodes principales d'analyse de perfusion par DCECT :

- Analyse qualitative : il s'agit d'analyser les cartes de couleurs générées automatiquement par le logiciel, et ce pour chaque paramètre de perfusion (Figure 7). Chaque pixel de l'image CT se voit attribué une couleur qui représente la valeur numérique du paramètre de perfusion calculé pour ce pixel spécifiquement. L'échelle de couleur est choisie par l'opérateur dans le but de maximiser les différences entre les zones de perfusion. L'analyse qualitative des cartes de couleur permet une visualisation globale de la distribution de chaque paramètre de perfusion dans l'ensemble du volume étudié, ainsi qu'une représentation immédiate de potentielles différences de perfusion au sein de la tumeur, avec l'identification simple d'éventuels spots angiogéniques (en théorie, les zones les plus perfusées) ou de zones de nécrose ou d'hypoxie possibles (en théorie, les zones les moins perfusées). Enfin, la plupart des logiciels disponibles dans le commerce permettent de superposer les cartes de couleurs aux images CT natives. Cette superposition peut être utile lorsque l'identification des marges tumorales est difficile, par exemple en présence d'une anatomie complexe ou après une chimiothérapie ou une RT (Petralia *et al.* 2010).



**Figure 7 :** a. image scanner en coupe transverse et reconstruction tissu mou du cou d'une personne en région du larynx et b. cartes de couleurs générées par le logiciel de perfusion. Les couleurs froides représentent les zones peu perfusées, et les couleurs chaudes les zones fortement perfusées. La zone entourée en vert montre un carcinome à cellules squameuses laryngé, plus perfusée que le reste des tissus laryngés ; la zone entourée en rouge montre la fonction d'entrée artérielle (artère carotide) (Razek *et al.* 2014).

- Analyse semi-quantitative : celle-ci repose sur l'obtention de la courbe temps-atténuation durant le temps d'acquisition du DCECT (Figure 8). Les méthodes semi-quantitatives donnent une description numérique des caractéristiques de la courbe temps-atténuation, telles que la pente, le pic, le délai avant le pic et l'aire sous la courbe, mais ne tiennent pas compte de la cinétique intra-artérielle du produit de contraste, qui peut varier considérablement d'un patient à l'autre et d'une procédure à l'autre (Petralia *et al.* 2010).



**Figure 8 :** image scanner en coupe transverse et reconstruction tissu mou des cavités nasales d'un chien (image de gauche), et courbe atténuation temps (image de droite, secondes en axis et unités Hounsfield en ordonnée). Sur l'image scanner la zone entourée en rouge représente un adénocarcinome nasal.

- Analyse quantitative : il s'agit d'interpréter les valeurs numériques de la perfusion, que le logiciel calcule pour le volume délimité par la région d'intérêt placée sur la tumeur. La valeur numérique finale est la moyenne des valeurs numériques de perfusion de chaque voxel inclus dans le ROI. Cette méthode de quantification a l'avantage de fournir une estimation de la perfusion globale du volume tumoral sélectionné et de garantir un haut niveau de répétabilité inter-observateur (Goh *et al.* 2007), mais elle a l'inconvénient de masquer les différences de perfusion au sein de la tumeur. Les paramètres de perfusion sont mesurés et/ou calculés, et incluent le volume sanguin (BV, mL.100g<sup>-1</sup>), le débit sanguin (BF, mL.100g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>), le temps de transit (TT, s) et le produit perméabilité-surface (PS, mL.100g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>). Les paramètres de perfusion DCECT ont une bonne concordance inter- et intra-observateur, en particulier pour BV et BF (Preda *et al.* 2014).

## 4.2 Applications du scanner de perfusion en oncologie humaine

En oncologie humaine, les paramètres de perfusion dérivés du DCECT sont corrélés à la DMV et aux marqueurs de la vascularisation de la tumeur, de la prolifération cellulaire et de l'apoptose (García-Figueiras *et al.* 2013). Le DCECT a une application clinique croissante en oncologie et a été utilisé pour aider à différencier les tissus néoplasiques des tissus normaux ou inflammatoires, pour la stadification,

comme indicateur de pronostic, pour évaluer la réponse au traitement et pour détecter les récurrences locales. Les tumeurs les plus étudiées sont les tumeurs pulmonaires, hépatiques, cérébrales, cervicales, pancréatiques et les tumeurs de la tête et du cou. Le DCECT a également été utilisé dans l'évaluation des médicaments anti-angiogéniques pour évaluer les changements dans la perfusion de la tumeur en cours de traitement (Nyflot *et al.* 2015).

Les carcinomes à cellules squameuses de la tête et du cou présentent une augmentation du BV et du BF et une diminution du TT par rapport aux tissus normaux ou aux lésions bénignes. De même, les nœuds lymphatiques métastatiques présentent un BF et un BV plus élevés que les nœuds lymphatiques bénins. Le DCECT a également été utilisé pour guider les biopsies et éviter les zones nécrotiques (Razek *et al.* 2014). En termes de réponse au traitement, de nombreuses études ont trouvé des corrélations entre les paramètres de perfusion, la réponse au traitement et le pronostic. En règle générale, les tumeurs présentant des BV et BF élevés avant traitement ont tendance à avoir un meilleur pronostic en termes de réponse au traitement et de durée de survie. Une forte réduction du BF et du BV pendant la chimio-radiothérapie est également associée à un meilleur contrôle local des tumeurs (Preda *et al.* 2014). Une diminution du BV pourrait s'expliquer par une réduction de la micro-vascularisation de la tumeur, et une diminution du BF pourrait représenter une réduction des shunts artério-veineux au sein de la micro-vasculature tumorale. L'analyse d'autres paramètres de perfusion tels que le PS et le MTT semble moins systématiquement associée à la réponse au traitement et au pronostic (Petralia *et al.* 2010).

La plupart des publications portant sur l'utilité de l'imagerie de perfusion pour grader les gliomes sont basées sur diverses techniques de perfusion par IRM. Cependant, le DCECT a également été utilisé, notamment durant les 2 dernières décennies. Ainsi, de nombreuses études ont démontré l'utilité du DCECT pour différencier les gliomes de bas et de haut grade avec une sensibilité (77,3-95%) et une spécificité (83,3-100 %) élevées, souvent en utilisant des paramètres de perfusion normalisés par rapport à la substance blanche controlatérale. D'une manière générale, les gliomes de haut grade (III et IV) présentent des paramètres de perfusion plus élevés que les gliomes de bas grade (I et II) (Ellika *et al.* 2007, Beppu *et al.* 2011, Shankar *et al.* 2013, Maarouf *et al.* 2015, Ahmad *et al.* 2016, Satheesh Kumar *et al.* 2017). Cette relation entre le CBV et le grade histologique est intuitive car les études pathologiques montrent une DMV plus élevée dans les tumeurs de grade supérieur. Environ 9 % des gliomes de haut grade ne réhaussent pas en IRM pondérée en T1 post-gadolinium, et ils peuvent donc être confondus avec des gliomes de bas grade (Scott *et al.* 2002). Une étude a montré que la mesure du BV en DCECT pouvait différencier les gliomes de grade III non-rehaussants des gliomes de grade II, avec une sensibilité et une spécificité respectivement de 90,9 % et 83,3 % (Beppu *et al.* 2011).

Les paramètres DCECT ont également été utilisés pour prédire le TMS après chirurgie/biopsie, RT et chimiothérapie. Malgré une hétérogénéité des résultats dans les différentes études, les examens DCECT réalisés avant traitement ont montré que les paramètres de perfusion étaient prédictifs du TMS (Jain *et al.* 2013, Shankar *et al.* 2013, Yeung *et al.* 2015).

Jain et collaborateurs en 2007 ont également utilisé le DCECT pour différencier les récurrences tumorales de la radionécrose. Les tumeurs récidivantes ont montré un BV et un BF plus élevés, et un MTT plus faible que la radionécrose. Par ailleurs, la radionécrose présente un PS plus faible que les tumeurs récidivantes (Jain *et al.* 2011, Lee *et al.* 2012).

Le DCECT a également été utilisé pour différencier des lésions cérébrales intra-axiales qui peuvent avoir la même apparence en imagerie en coupe, telles que les gliomes de haut grade, le lymphome et les maladies démyélinisantes. Les maladies démyélinisantes présentent un PS et un BV plus faibles que les gliomes de haut grade, et le DCECT peut être utilisé pour différencier les deux entités (Jain *et al.* 2010).

Les lymphomes peuvent occasionnellement présenter une apparence similaire à celle des gliomes de haut grade en imagerie en coupe, en particulier s'ils sont compliqués par une hémorragie. Cependant, le DCECT semble précis dans la différenciation des deux entités (Lee *et al.* 2012, Xyda *et al.* 2012).

### 4.3 Utilisation du scanner de perfusion en médecine vétérinaire

Le DCECT a rarement été utilisé chez le chien, et principalement à des fins de recherche fondamentale et de preuve de concept (Malinen *et al.* 2011, Hansen *et al.* 2012, Rødal *et al.* 2013, La Fontaine *et al.* 2017). La Fontaine et collaborateurs ont comparé différents logiciels de perfusion chez 11 chiens atteints de tumeurs nasales et ont montré une bonne concordance entre les logiciels mais une grande variabilité intra-individuelle des paramètres de perfusion (La Fontaine *et al.* 2017). Les paramètres de perfusion DCECT et la tomographie par émission de positons au 18FDG se sont révélés fortement corrélés dans une série de cas sur 3 chiens, suggérant que le DCECT pourrait être utile pour l'évaluation de la physiologie des tumeurs (Malinen *et al.* 2011). Des valeurs de perfusion DCECT normales ont été décrites pour le cerveau et le pancréas canins (Peterson *et al.* 2008, Kishimoto *et al.* 2011).

L'étude clinique la plus importante décrit 34 chiens atteints de différents types de tumeurs intracrâniennes. Ces chiens ont été traités par chirurgie, RT ou une combinaison des deux. Le volume tumoral de base et les paramètres de perfusion DCECT ont été mesurés et comparés à un examen de contrôle, réalisé environ 3 mois après le début du traitement. Le BV et le BF ont diminué de manière significative entre l'examen initial et le premier contrôle. Cependant, les auteurs n'ont pas trouvé de lien entre les paramètres de perfusion DCECT et la durée de survie (Zwingenberger *et al.* 2016).

Une autre étude portant sur 16 chiens présentant des lésions inflammatoires ou tumorales cérébrales a montré que, bien que la plupart des lésions soient associées à un BV et un PS élevés, les méningiomes présentaient un PS significativement plus élevé, comme cela est observé chez l'homme. Cependant, le DCECT n'était pas assez performant pour différencier les types de lésions (MacLeod *et al.* 2009).

Une analyse qualitative de la perfusion a également été réalisée sur 31 chiens atteints de différents types de sarcomes et de carcinomes. Cette étude a montré que la perfusion tumorale était plus élevée dans les carcinomes que dans les sarcomes. Cela suggère que le DCECT pourrait être un outil utile pour

différencier les types de tumeurs, en particulier pour les tumeurs qui ne peuvent pas être prélevées (Nitzl *et al.* 2009).

Une étude portant sur 9 chiens atteints de tumeurs nasales a montré des modifications non spécifiques des paramètres de perfusion DCECT durant la RT (Camp *et al.* 2000). Des résultats similaires ont été obtenus sur une seconde série de cas sur 3 chiens (Rødal *et al.* 2013). Cependant, aucune de ces deux études n'a comparé les paramètres de perfusion DCECT au type de tumeur, à la réponse au traitement et à la durée de survie.

Une étude portant sur 20 chiens atteints de tumeurs oro-faciales (MM, SCC et FS) a comparé l'intensité du rehaussement en CT et la DMV (Klansnoh *et al.* 2018). Même s'il ne s'agit pas à proprement parler de DCECT, cette étude a montré une corrélation positive entre l'intensité du rehaussement et la DMV. Par ailleurs, au sein de leur population, les SCC ont présenté un rehaussement et une DMV supérieurs aux MM et FS. De la même manière, une étude portant sur 36 chiens atteints de tumeurs de types et localisations variés a montré que l'administration d'un traitement anti-angiogénique induisait une diminution du rehaussement CT chez 83,3 % des chiens traités. Cependant, le degré de diminution du rehaussement n'était pas corrélé à la régression tumorale (Takagi *et al.* 2020).

---

# Objectifs

---

Le DCECT permet une évaluation non-invasive de la perfusion du tissu tumoral, et les paramètres dérivés de cet examen présentent un intérêt diagnostique et pronostique grandissant en médecine humaine (Beppu *et al.* 2001, Ellika *et al.* 2007, Jain *et al.* 2007, Jain *et al.* 2010, Petralia *et al.* 2010, Lee *et al.* 2012, Xyda *et al.* 2012, Jain *et al.* 2013, Shankar *et al.* 2013, Preda *et al.* 2014, Razek *et al.* 2014, Maarouf *et al.* 2015, Nyflot *et al.* 2015, Yeung *et al.* 2015, Ahmad *et al.* 2016, Satheesh Kumar *et al.* 2017). En médecine vétérinaire, cette technique n'a été que très peu étudiée, et principalement dans un contexte de recherche pré-clinique ou sous forme de séries de cas (Peterson *et al.* 2008, Kishimoto *et al.* 2011, Malinen *et al.* 2011, Hansen *et al.* 2012, Rødal *et al.* 2013, La Fontaine *et al.* 2017). Une étude sur une large population de chiens atteints de tumeurs cérébrales n'a pas permis de corréler les paramètres de perfusion DCECT avec la durée de survie (Zwingenberger *et al.* 2016).

Nombre d'études scientifiques en oncologie humaine et vétérinaire ont démontré l'intérêt pronostique de la DMV tumorale, et des études réalisées en médecine humaine ont permis de corréler les paramètres de perfusion DCECT à la DMV (Goh *et al.* 2008, Ash *et al.* 2009, d'Assignies *et al.* 2009, Satoh *et al.* 2010, Jain *et al.* 2011, Kim *et al.* 2012, Osimani *et al.* 2012, Qin *et al.* 2013, Luczynska *et al.* 2014). Cependant, la littérature scientifique sur ce sujet reste limitée, et les résultats inconstants d'une étude sur l'autre.

Les tumeurs non-résécables de la tête du chien, en particulier les tumeurs nasales, intra-crâniennes et oro-faciales, sont fréquemment traitées par de la RT (Dunfield *et al.* 2018). Des facteurs pronostiques et des critères de réponse au traitement seraient particulièrement utiles afin de sélectionner le traitement le plus adapté pour ces patients, et d'informer au mieux les propriétaires.

L'*objectif général* de ce travail a été d'appliquer le DCECT sur une série de chiens atteints de tumeurs de la tête afin d'évaluer et comparer les valeurs des paramètres de perfusion de ces tumeurs et leur variation durant la RT, les comparer entre différents types de tumeurs et la DVM, et enfin de rechercher une association avec le TMS. Ce travail a été segmenté en 4 études sur base du type de tumeur (*Études I, II et III*) et de la comparaison entre DECT et quantification histopathologique de la DMV (*Étude IV*).

Les *objectifs spécifiques* des 4 études sont les suivants :

*Étude I :*

- (a) Évaluer les valeurs des paramètres de perfusion DCECT initiaux chez des chiens atteints de tumeurs nasales en fonction du type histopathologique,
- (b) Décrire les variations des valeurs des paramètres de perfusion durant la RT et les comparer avec les modifications de volume de la tumeur,
- (c) Évaluer s'il existe une association entre les variations des valeurs des paramètres de perfusion pendant la RT et le TMS.

Les hypothèses étaient que les carcinomes et les sarcomes présentent des valeurs de paramètres de perfusion différentes et que les modifications des valeurs de ces paramètres au cours de la RT sont associées au TMS.

*Étude II :*

- (a) Comparer les valeurs des paramètres de perfusion DCECT entre les tumeurs intra-axiales, extra-axiales et hypophysaires,
- (b) Évaluer si les valeurs des paramètres de perfusion initiaux sont associées au temps de survie,
- (c) Décrire les modifications précoces des valeurs des paramètres de perfusion et de taille des masses pendant la RT.

Les hypothèses étaient que les tumeurs extra-axiales et hypophysaires présentent un BF et un BV plus élevés que les tumeurs intra-axiales, que les valeurs des paramètres de perfusion initiaux sont associées au TMS et que des variations précoces des valeurs des paramètres de perfusion et de volume des masses sont observées pendant la RT.

*Étude III :*

- (a) Décrire les valeurs des paramètres de perfusion DCECT de différents types de tumeurs oro-faciales dans une petite population de chiens,
- (b) Décrire les modifications des valeurs des paramètres de perfusion pendant la RT.

Les hypothèses étaient que les paramètres de perfusion des tumeurs mésoenchymateuses tendent à être plus faibles que ceux des tumeurs épithéliales, et que l'on observe des modifications précoces de ces paramètres durant la RT.

*Étude IV :*

- (a) Comparer les valeurs des paramètres de perfusion DCECT et la DMV chez un groupe de chiens atteints de tumeurs de la tête,
- (b) Corréler les valeurs des paramètres de perfusion et la DMV avec le TMS,
- (c) Comparer les valeurs des paramètres de perfusion et la DMV entre les tumeurs épithéliales et les tumeurs mésoenchymateuses.

Les hypothèses étaient qu'il existe une corrélation positive entre les valeurs des paramètres de perfusion et la DMV, que les valeurs des paramètres de perfusion et la DMV sont corrélées avec le TMS et que les tumeurs épithéliales et mésoenchymateuses présentent des valeurs de paramètres de perfusion et une DMV différentes.

---

# Section expérimentale

---

---

# Section expérimentale

## Étude 1 :

Le scanner de perfusion chez les chiens atteints de tumeurs nasales

---

## Résumé

*Le traitement des tumeurs nasales chez le chien est associé à une morbidité élevée et il n'existe pas de facteurs pronostiques fiables. Le scanner de perfusion (DCECT) peut être utilisé pour évaluer la perfusion tumorale. Les objectifs de cette étude sont d'évaluer les valeurs des paramètres de perfusion des tumeurs nasales (en corrélation avec le type de tumeur) avant et pendant la radiothérapie (RT) et trouver une corrélation potentielle avec le temps de survie. Vingt-quatre chiens présentant des tumeurs nasales, dont 16 tumeurs épithéliales et 8 tumeurs mésenchymateuses ont été prospectivement recrutés. Tous les chiens ont subi un DCECT de base pour évaluer le volume sanguin (BV), le débit sanguin (BF) et le temps de transit (TT). Treize chiens ont subi un DCECT de contrôle après 12 Gy de RT mégavoltage. Les temps de survie ont été calculés. Le BV médian était de 17,83 mL/100 g (intervalle, 3,63-66,02), le BF médian de 122,63 mL/100 g/minute (intervalle, 23,65-279,99) et le TT médian de 8,91 s (intervalle, 4,57-14,23). Les sarcomes avaient un BF significativement plus bas que les adénocarcinomes ( $P = .002$ ), les carcinomes ( $P = .01$ ), et les autres carcinomes (transitionnels, papillaires et non-classés) ( $P = .001$ ), et un BV significativement plus bas que les adénocarcinomes ( $P = .03$ ) et les autres carcinomes ( $P = .004$ ). Des associations significatives ont été trouvées entre les tumeurs épithéliales et les sarcomes concernant le changement de volume ( $P = .01$ ), la largeur ( $P = .004$ ), et la longueur ( $P = .02$ ) de la tumeur, dans la mesure où les tumeurs épithéliales ont diminué en volume alors que les tumeurs mésenchymateuses ont augmenté en volume. Les valeurs des paramètres de perfusion n'étaient pas corrélées au temps de survie. Les sarcomes nasaux ont des BV et BF plus faibles que les carcinomes nasaux, et les sarcomes ont une réduction de taille plus faible que les carcinomes en début de RT. Les valeurs des paramètres de perfusion initiaux et leurs modifications au cours de la RT n'étaient pas corrélées au temps de survie.*

# ———— Section expérimentale

## Étude 1 :

Dynamic contrast-enhanced computed tomography in dogs with  
nasal tumors

———— *Journal of Veterinary Internal Medicine* 37(3):1146-54

J. Mortier, T. Maddox, L. Blackwood, M.D. La Fontaine, V. Busoni

## ***Abstract***

*Treatment of nasal tumors in dogs is associated with high morbidity and reliable prognostic factors are lacking. Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) can be used to assess tumor perfusion. Objectives of this study were to assess perfusion parameters of nasal tumors (correlating with tumor type) before and during radiotherapy (RT) and find potential correlation with survival. Twenty-four client-owned dogs with nasal tumors, including 16 epithelial tumors and 8 sarcomas were prospectively recruited. All dogs had baseline DCECT to assess fractional vascular volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT). Thirteen dogs had repeat DCECT after 12 Gy of megavoltage RT. Survival times were calculated. Median BV was 17.83 mL/100 g (range, 3.63-66.02), median BF was 122.63 mL/100 g/minute (range, 23.65-279.99), and median TT was 8.91 seconds (range, 4.57-14.23). Sarcomas had a significantly lower BF than adenocarcinomas ( $P = .002$ ), carcinomas ( $P = .01$ ), and other carcinomas ( $P = .001$ ), and significantly lower BV than adenocarcinomas ( $P = .03$ ) and other carcinomas ( $P = .004$ ). Significant associations were found between epithelial tumors and sarcoma for change in tumor volume ( $P = .01$ ), width ( $P = .004$ ), and length ( $P = .02$ ) in that epithelial tumors decreased in volume whereas sarcomas increased in volume. Perfusion parameters were not correlated with survival. Nasal sarcomas have lower BV and BF than nasal carcinomas, and sarcomas have a lower size reduction than carcinomas early on during RT. Baseline results and changes in perfusion parameters may not be correlated with survival.*



Received: 7 December 2022 | Accepted: 8 April 2023  
DOI: 10.1111/jvim.16722

## STANDARD ARTICLE

Journal of Veterinary Internal Medicine **ACVIM**  
Open Access American College of  
Veterinary Internal Medicine

# Dynamic contrast-enhanced computed tomography in dogs with nasal tumors

Jeremy R. Mortier<sup>1,2</sup> | Thomas W. Maddox<sup>1</sup> | Laura Blackwood<sup>1</sup> |  
Matthew D. La Fontaine<sup>3</sup> | Valeria Busoni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Small Animal Teaching Hospital, Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Neston, United Kingdom

<sup>2</sup>Diagnostic Imaging Section, Clinique Vétérinaire Universitaire, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Liège, Belgium

<sup>3</sup>The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, The Netherlands

### Correspondence

Jeremy R. Mortier, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94700 Maisons-Alfort, France.  
Email: [jeremy.mortier@vet-alfort.fr](mailto:jeremy.mortier@vet-alfort.fr)

### Funding information

Université de Liège, Grant/Award Number: FSR2018

## Abstract

**Background:** Treatment of nasal tumors in dogs is associated with high morbidity and reliable prognostic factors are lacking. Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) can be used to assess tumor perfusion.

**Objectives:** To assess perfusion parameters of nasal tumors (correlating with tumor type) before and during radiotherapy (RT) and find potential correlation with survival.

**Animals:** Twenty-four client-owned dogs with nasal tumors, including 16 epithelial tumors and 8 sarcomas.

**Methods:** Prospective cross-sectional study. All dogs had baseline DCECT to assess fractional vascular volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT). Thirteen dogs had repeat DCECT after 12 Gy of megavoltage RT. Survival times were calculated.

**Results:** Median BV was 17.83 mL/100 g (range, 3.63-66.02), median BF was 122.63 mL/100 g/minute (range, 23.65-279.99), and median TT was 8.91 seconds (range, 4.57-14.23). Sarcomas had a significantly lower BF than adenocarcinomas ( $P = .002$ ), carcinomas ( $P = .01$ ), and other carcinomas ( $P = .001$ ), and significantly lower BV than adenocarcinomas ( $P = .03$ ) and other carcinomas ( $P = .004$ ). Significant associations were found between epithelial tumors and sarcoma for change in tumor volume ( $P = .01$ ), width ( $P = .004$ ), and length ( $P = .02$ ) in that epithelial tumors decreased in volume whereas sarcomas increased in volume. Perfusion parameters were not correlated with survival.

**Conclusions and Clinical Importance:** Nasal sarcomas have lower BV and BF than nasal carcinomas, and sarcomas have a lower size reduction than carcinomas early on during RT. Baseline results and changes in perfusion parameters may not be correlated with survival.

**Abbreviations:** BF, blood flow; BV, blood volume; CT, computed tomography; DCECT, dynamic contrast-enhanced computed tomography; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drugs; RT, radiotherapy; TT, transit time.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2023 The Authors. *Journal of Veterinary Internal Medicine* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of American College of Veterinary Internal Medicine.

## KEYWORDS

DCECT, dogs, nasal tumor, perfusion CT, radiotherapy

## 1 | INTRODUCTION

Tumors of the nasal cavity and paranasal sinuses are relatively common neoplasms in dogs, representing approximately 1% to 2% of all cancers.<sup>1</sup> Approximately two-thirds of nasal tumors are carcinomas and one-third are sarcomas, most commonly chondrosarcomas.<sup>2-5</sup> Dogs with nasal tumors can be treated using surgery, chemotherapy, radiotherapy (RT), or some combination of these. Megavoltage RT often is used in these patients, with median survival times ranging from 350 to 650 days.<sup>3,4,6-13</sup> The relationship between tumor type and prognosis is unclear, but carcinomas tend to respond better than sarcomas to RT in terms of size reduction, but without a significant difference in survival time between the 2 groups.<sup>14</sup> Radiotherapy can be associated with morbidity caused by radiation toxicity, requires owner commitment, and entails considerable financial expense.<sup>15</sup> Current assessment of response to treatment in solid tumors often relies on changes in clinical signs and tumor size on CT using Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST).<sup>16</sup> These variables do not seem to be accurate predictors of progression-free interval,<sup>17</sup> and there is a need to develop pre-treatment prognostic indicators that might help tailoring treatment on an individual basis.

Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) is a functional imaging technique that allows assessment of blood flow in the capillary network by continuous or intermittent scanning of a volume of tissue during IV administration of contrast medium.<sup>18-20</sup> Correlations exist between DCECT-derived perfusion parameters of solid tumors with hypoxia, and among tumor hypoxia, malignant progression, and treatment failure.<sup>21</sup> In human beings with head and neck cancer, DCECT (also referred to as perfusion CT), has shown promise as a prognostic indicator, and is used to assess response to treatment and to detect local recurrence.<sup>22-25</sup>

Dynamic contrast-enhanced computed tomography has been used in dogs, and several proof-of-principle studies have assessed normal tissues and tumors, and compared DCECT to 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography.<sup>26-42</sup> Two studies specifically reported DCECT in nasal tumors but did not find correlation with histogenesis or survival.<sup>33,39</sup> Our objectives were (a) to assess baseline perfusion parameters in dogs with nasal tumors based on histopathological type, (b) to characterize changes in perfusion parameters with changes in tumor volume after the start of RT, and (c) to evaluate if a correlation existed of either objective 1 or objective 2 with survival. Our hypothesis was that carcinomas and sarcomas would have different perfusion parameters and that alterations in these parameters during RT would be correlated with survival.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Experimental design

#### 2.1.1 | Case selection

Prospective cross-sectional study. Client-owned dogs presented to the Small Animal Teaching Hospital of the University of Liverpool for suspicion of nasal tumors were prospectively enrolled from January 2017 to January 2020. Owner consent for diagnostic tests including DCECT was obtained before inclusion in the study. To meet the inclusion criteria, a histological diagnosis of nasal tumor was required, and dogs must have undergone at least baseline DCECT. Dogs that had already received RT, tyrosine kinase inhibitors or chemotherapy were excluded. Dogs receiving other non-chemotherapeutic medical treatments for nasal tumor (eg, anti-inflammatory or antimicrobial medications) were not excluded.

### 2.2 | Clinical data

Duration and type of clinical signs, treatment received at the time of DCECT, heart rate and systolic blood pressure during DCECT, side and histological type of the nasal tumor, treatment administered for the nasal tumor and survival time from referral consultation were recorded. Treatment administered before the consultation was categorized as corticosteroids, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), none or other (eg, vitamin K, antimicrobials). Histological type was classified as adenocarcinoma, carcinoma, other carcinoma (comprising transitional carcinoma, undifferentiated carcinoma and papillary carcinoma) and sarcoma for baseline DCECT. Too few dogs were present in each group for repeat DCECT, therefore adenocarcinomas, carcinomas and other carcinomas were grouped together and designated epithelial tumors. Treatments received for the nasal tumor were categorized as RT, chemotherapy (1 dog), none or palliative (eg, NSAID, paracetamol). Finally, any clinically relevant comorbidity was recorded.

### 2.3 | Dynamic contrast-enhanced computed tomography

All dogs but 1 were anesthetized, with a single dog receiving sedation (medetomidine, 0.005 mg/kg and butorphanol 0.3 mg/kg). Premedication varied depending on the attending anesthetist, but most dogs received medetomidine (0.003 to 0.01 mg/kg) in association with butorphanol, buprenorphine or methadone, with 1 dog receiving acepromazine (0.02 mg/kg) instead of medetomidine. Dogs were induced

using propofol or alfaxalone (to effect) and anesthesia was maintained using sevoflurane. The DCECT was performed using an 80-slice CT scanner (Aquilion Prime 80, Canon Medical System) with dogs in sternal recumbency. Dogs for which owners elected RT were immobilized using a thermoplastic mask and customized head support, secured to a plastic head frame with 4 points of fixation, as part as the standard RT planning.

Pre-contrast scan of the head, thorax and abdomen was performed. Scanning parameters were 120 kV, variable mAs using automatic exposure control, pitch factor 0.625, and images were reconstructed at 1 mm slice thickness using bone and soft tissue (head), lung and soft tissue (thorax) and only soft tissue (abdomen) reconstruction algorithms. The DCECT planning was performed using the pre-contrast soft tissue reconstruction in a soft tissue window (window width, 200 Hounsfield unit [HU]; window level, 40 HU).

A 4-cm length field of view was chosen to include the entirety of the tumor or the tumor center if the total mass was longer than 4 cm.

A 60-second continuous scan starting with IV injection of 2 mL/kg body weight of iodinated contrast medium (Ioversol 300 mg/mL iodine) using a power injector set at 3 mL/second injection rate (maximal allowable injection pressure set at 150 psi) and followed by a bolus of saline (1 mL/kg) at the same injection rate. Scanning parameters were 80 kV, 200 mA, 0.75 second rotation time, 0.5 mm scan slice thickness, 1 second time interval, and 2 mm reconstruction slice thickness. Images were reconstructed using a soft tissue reconstruction algorithm.

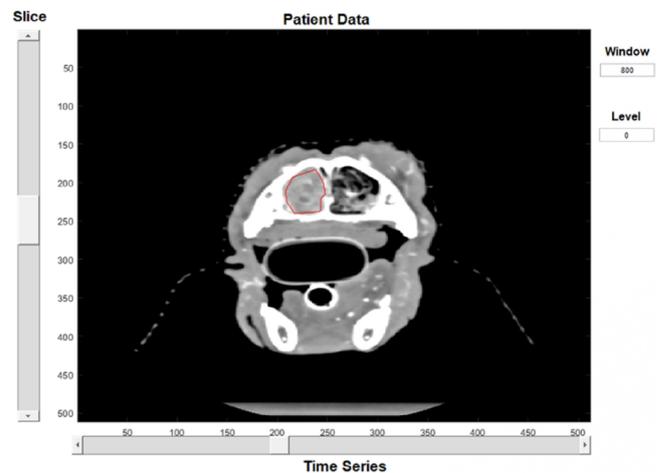
A post-contrast scan of the head, thorax, and abdomen was performed immediately after the perfusion CT (90 seconds after IV injection of iodinated contrast medium), using the same scanning parameters as for the pre-contrast scan.

\* Fourteen dogs had a second DCECT using the same anesthetic protocol (all under general anesthesia) and the same scanning technique as described above, after receiving 12 Gy in 3 fractions. Median time between the first and second DCECT was 15 days (range, 10-23).

## 2.4 | Radiation therapy

Dogs received RT using a linear accelerator (Clinac 2100 or VitalBeam, Varian Medical Systems, Palo Alto, California). Definitive RT was administered with 12 fractions of 4 Gy on a Monday, Wednesday, Friday basis. All treatments were carried out at 6 MV and were 3-dimensionally (3D)-planned from CT images using Pinnacle version 8/9 (Pinnacle, Phillips Radiation Oncology Systems, Phillips Healthcare, Andover, Massachusetts) or Eclipse 15.1 (Varian Medical Systems, Palo Alto, California) with intention to include  $\geq 95\%$  of the planning treatment volume (clinical target plus 0.5 cm) in the 95% to 105% isodose. Organs at risk were segmented. Plans utilized 3 or 4 coplanar beams, with beam collimation using multileaf collimator beam modification and dynamic wedges where appropriate. Dogs were immobilized as described for the CT scans. Portal imaging was carried out at least twice during the treatment protocol to verify position.

\*Thirteen dogs had a second DCECT



**FIGURE 1** Computed tomographic image of a nasal tumor in transverse plane and soft tissue window using the perfusion analysis software and showing the contouring of the mass (red line) for subsequent perfusion analysis. x-axis and y-axis are the time series and CT slices, respectively.

## 2.5 | Images and perfusion analysis

Conventional CT images of the head were reviewed by a European College of Veterinary Diagnostic Imaging board-certified radiologist (JM) blinded to the clinical data of the dogs, using a Macintosh workstation and an image viewer (OsirixMD, Pixmeo). Images were viewed using both a soft tissue window (window width, 200 HU; window level, 40 HU) and a bone window (window width, 4500 HU; window level, 450 HU). Multiplanar reconstruction was performed for each dog. Length, width, and height of the mass with planes parallel and orthogonal to those of the head were measured and the volume of the tumor (using the ellipsoid formula,  $V = 4/3 \times \pi \times L \times W \times H$ ) was calculated. Heterogeneity of the masses pre- and post-contrast were subjectively graded from 0 (homogeneous) to 3 (markedly heterogeneous). The degree of contrast enhancement of the masses was subjectively assessed and graded on a 0 (none to poor) to 3 (marked) scale. Margination of the masses also was subjectively graded from 0 (poorly margined) to 3 (well margined). Stage of the tumor according to the modified Adam's staging system was determined.<sup>43</sup> Presence of lymphadenomegaly also was noted when the height of the mandibular or width of the medial retropharyngeal lymph nodes was  $>1$  cm or when a size difference was noted between the left and right lymph nodes.<sup>44,45</sup> The CT images of the thorax and abdomen were reviewed, and any abnormality noted was recorded.

Dynamic contrast-enhanced computed tomographic images were analyzed using an adiabatic approximation to the tissue homogeneity (ATH) model implemented with MATLAB (MathWorks, Massachusetts), designed as part of a previous study.<sup>39</sup> An arterial input function was first contoured, and a time-attenuation curve displayed to verify it had a shape consistent with arterial blood flow. The artery selected for the

arterial input function was the deep lingual artery because it was consistently the largest artery included in the field of view not surrounded with bone. To appropriately contour the artery without selecting peripheral lingual tissue the image was zoomed in and contoured on the arterial phase (veins not contrast-enhanced). Only the center of the artery was included when possible. The nasal mass then was contoured manually slice by slice on every slice containing suspected tumoral tissue (Figure 1). Care was taken not to include bone within the contouring. Therefore, the most peripheral sliver of tumor tissue was not included in the contouring when the tumor was contacting the bones of the nasal passage. Similarly, when present, parts of the tumor that were extending outside the nasal cavities were not included if they were too small or contained bone. Perfusion parameters obtained from the analysis were blood flow (BF) and transit time (TT). Vascular fraction (blood volume [BV]) then could be calculated using the formula:  $BV = TT \times BF$ . Perfusion analysis was performed by a trained operator (JM).

## 2.6 | Statistical analysis

All statistical analyses were performed using the software packages SPSS 24.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) and R (R version 3.2.0, The R Foundation for Statistical Computing). All dependent and independent variables were derived from the signalment data, clinical data, CT examinations and histopathological examinations. Descriptive statistics were calculated for data where appropriate. Categorical variables were summarized as frequencies with 95% confidence intervals (CI) and continuous variables as medians with interquartile ranges (IQR). Categorical variables with multiple categories, categories containing small numbers or both were reviewed and collapsed if required. The distribution of any continuous variable was assessed for deviation from normal both graphically and using the Kolmogorov-Smirnov test.

Three primary individual outcomes were considered: BF, TT, BV, and associations between these continuous variables and the collected independent variables were estimated using linear regression. All independent variables showing potential association with an outcome on univariable analysis ( $P$  value  $<.25$ ) were considered for inclusion in the final multivariable model for that outcome. Variables showing evidence of correlation (correlation coefficient  $>0.7$ ), were examined and only the variable with the smallest  $P$  value was selected for entry in the multivariable models developed. Final models were developed using a manual backwards stepwise methodology with retention of variables with  $P$  values  $<.05$ . Additionally, for the 14 dogs that were re-scanned, linear regression was used to compare the change in tumor variables (length, width, height, volume, BF, BV, TT) between epithelial tumors and sarcomas and to evaluate associations between tumor volume and perfusion parameters (BF, BV, TT).

Survival times were calculated from time of first visit until death. Dogs alive at the time of data collection were considered censored, as were dogs lost to follow-up (censored at date of last known contact).

Median survival times were calculated using Kaplan-Meier product limit (survival) analysis. Univariable comparison of survival times and associations between survival and independent variables were examined using the log rank test for categorical variables and Cox proportional hazard regression analysis for continuous variables. Multivariable regression models were constructed using a similar approach, including all variables with univariable  $P$  value  $<.25$  and a backwards stepwise approach with retention of  $P$  values  $<.05$ .

## 3 | RESULTS

### 3.1 | Patient demographics and clinical data

Twenty-four dogs met the inclusion criteria. All dogs had baseline DCECT and 13 dogs had repeat DCECT. There were 13 spayed females, 2 intact males, and 9 neutered males. Breeds varied and included 6 cross breeds, 3 West Highland white terriers, 2 border collies, 2 English springer spaniels, 1 cocker spaniel, 1 boxer, 1 rottweiler, 1 Labrador retriever, 1 Staffordshire bull terrier, 1 Yorkshire terrier, 1 lurcher, 1 Rhodesian ridgeback, 1 Airedale terrier, 1 Irish setter, and 1 Cavalier King Charles spaniel. Median age of the dogs was 9.9 years; median weight was 19.1 kg.

Fourteen nasal masses were left-sided and 10 were right-sided. There were 5 adenocarcinomas, 6 carcinomas, 5 other carcinomas (3 transitional carcinomas, 1 papillary carcinoma, and 1 unclassified carcinoma), and 8 sarcomas (4 chondrosarcomas, 1 hemangiosarcoma, and 3 sarcomas of undetermined cell lineage).

At presentation, 5 dogs were receiving a NSAID, 3 dogs were receiving corticosteroids, 4 dogs were receiving a treatment classified as other (gabapentin and loratadine in 1 dog, trimethoprim-sulfamethoxazole in 1 dog, amoxicillin-clavulanate in 1 dog, and vitamin K1 in 1 dog) and 12 dogs were receiving no treatment at the time of presentation.

At repeat DCECT, 12/13 dogs were receiving corticosteroids and 1 dog was receiving a NSAID. In addition, 9 dogs were receiving acetaminophen and 7 dogs were receiving antibiotics for minor infections. One dog was receiving amlodipine.

Fourteen dogs had RT, 1 dog had chemotherapy without RT (carboplatin 10 mg/kg once a week for 3 weeks), 6 dogs had palliative treatment only, and 3 dogs had no treatment.

In total, 21/24 dogs had a record of their heart rate during the baseline DCECT, at the time of injection of contrast medium. All were considered appropriate by the attending anesthetist and ranged from 40 to 110 beats per minute (bpm; median, 85 bpm). Similarly, systolic blood pressure was obtained for 14 dogs and ranged from 80 to 140 mmHg (median, 100 mmHg).

Of the 19/24 dogs that had cytological analysis of the mandibular lymph nodes, only 1 had metastasis detected. This dog did not have lymphadenomegaly on CT.

Two patients had clinically relevant comorbidity; 1 had metastatic adenocarcinoma of the anal gland and another had systemic hypertension (the dog treated with amlodipine).

**TABLE 1** Median baseline perfusion parameters in different histological types of nasal tumors in dogs.

	Median blood volume (min-max) (mL/100 g)	Median blood flow (min-max) (mL/100 g/min)	Median transit time (min-max) (s)
Adenocarcinomas (n = 5)	30 (54.4-163.4)	257.3 (89.1-280)	9.1 (7.1-12.2)
Carcinomas (n = 6)	15.3 (7.8-37.1)	125.9 (73.1-280)	8.2 (4.6-10.7)
Other carcinomas (n = 5)	29.7 (8.5-66)	255.4 (107-274.2)	10.6 (5.1-14.2)
Sarcomas (n = 8)	8.2 (3.6-18.3)	61.2 (23.7-121.5)	9.4 (5.6-12.3)

## 3.2 | Imaging findings

### 3.2.1 | Baseline DCECT

Imaging and perfusion analysis results are detailed in File S1.

Median mass length, width, height, and volume were 4.9 cm (range, 1.9-7.2), 2.1 cm (range, 1-4), 1.2 cm (range, 1.4-4.4), and 127 cm<sup>3</sup> (range, 14.5-408.8), respectively. Median volume for the different tumor types was 61.6 cm<sup>3</sup> for adenocarcinomas, 160.2 cm<sup>3</sup> for carcinomas, 50.2 cm<sup>3</sup> for other carcinomas, and 140.5 cm<sup>3</sup> for sarcomas. Median grade for tumor margination, heterogeneity, intensity of contrast enhancement, and heterogeneity of contrast enhancement were 2, 1.5, 2, and 2, respectively. For dogs that had repeat DCECT, median tumor volumes pre-treatment were 49.6 cm<sup>3</sup> (mean, 82.5) for epithelial tumors and 150.8 cm<sup>3</sup> (mean, 141.9) for sarcomas.

Six dogs were stage 1, 3 dogs were stage 2, 10 dogs were stage 3, and 5 dogs were stage 4. Five dogs had mandibular lymphadenomegaly, all of which were not metastatic on cytological analysis, and 3 dogs had pulmonary nodules.

Median BV was 17.83 mL/100 g (range, 3.63-66.02), median BF was 122.63 mL/100 g/minute (range, 23.65-279.99), and median TT was 8.91 seconds (range, 4.57-14.23). Results for the different groups of tumors are shown in Table 1. Sarcomas had a significantly lower BF than adenocarcinomas ( $P = .002$ ), carcinomas ( $P = .01$ ), and other carcinomas ( $P = .001$ ), and significantly lower BV than adenocarcinomas ( $P = .03$ ) and other carcinomas ( $P = .004$ ). The weight of the dog was negatively associated with both BF ( $P = .002$ ) and BV ( $P = .04$ ). No significant association was found between tumor stage, imaging characteristics and perfusion parameters.

### 3.2.2 | Repeat DCECT

Imaging and perfusion analysis results are detailed in File S1.

Significant associations were found between epithelial tumors and sarcomas for change in tumor volume ( $P = .01$ ), width ( $P = .004$ ), and length ( $P = .02$ ) between the first and second DCECT. Median decrease in tumor volume was 11 cm<sup>3</sup>, with a median decrease in volume of 18.6 cm<sup>3</sup> in the epithelial tumors group and a median increase in volume of 28 cm<sup>3</sup> in the sarcoma group. Only 1/5 dog in the sarcoma group experienced tumor volume reduction and only 1/8 dog in the epithelial tumor group showed an increase in tumor volume based on repeat DCECT.

Median and mean changes in perfusion parameters for epithelial tumors and sarcomas are presented in Table 2. Changes in perfusion parameters between the first and second DCECT were not significantly different between epithelial tumors and sarcomas.

## 3.3 | Survival analysis

At the end of the study 17 dogs were dead, 16 because of progression of their nasal tumor and 1 because of metastatic anal sac adenocarcinoma, and 7 were either still alive or lost to follow-up.

Median survival time was 321 days (95% CI, 252-390) for all dogs, 374 days for dogs that received RT, 333 days for dogs that received palliative treatment and 116 days for dogs that had no treatment. The only dog that received chemotherapy had a survival time of 88 days.

Raw data from the study are shown in Table S1.

On multivariate analysis, only the type of treatment received for the nasal tumor was associated with survival ( $P = .01$ ). More specifically, dogs receiving no treatment had the shortest survival time. Perfusion parameters were not significantly associated with survival in the final statistical model.

## 4 | DISCUSSION

We assessed CT-based morphological characteristics and DCECT perfusion parameters of different histological types of nasal tumors at baseline and during RT in dogs. Sarcomas had lower baseline BV and BF than epithelial tumors, and sarcomas experienced a smaller reduction in size than epithelial tumors during the early course of RT. Neither CT-based morphological characteristics nor DCECT perfusion parameters were significantly associated with survival.

A previous study of 31 dogs with spontaneous tumors (15 carcinomas and 16 sarcomas of various origins and localizations) in which semi-quantitative perfusion analysis was performed showed that soft tissue sarcomas had significantly lower BF than carcinomas and bone sarcomas.<sup>30</sup> These results are in agreement with our results and could be explained by the presence of a dense stroma and extracellular matrix in most nasal chondrosarcomas and osteosarcomas.<sup>46</sup> Stroma can represent zones of hypoxia in tumors and BF and BV are negatively correlated with the degree of tumor hypoxia.<sup>47,48</sup> However, tumor microenvironment and its relationship with hypoxia and

**TABLE 2** Median change in perfusion parameters between baseline and repeat dynamic contrast-enhanced computed tomography in dogs with nasal tumors.

	Median $\Delta$ blood volume (min-max) (mL/100 g)	Median $\Delta$ blood flow (min-max) (mL/100 g/min)	Median $\Delta$ transit time (min-max) (s)
Epithelial tumors (n = 8)	5.3 (–22.8 to 27.7)	6.9 (–30 to 92.4)	1.4 (–4.8 to 5.9)
Sarcomas (n = 5)	–3.4 (–8.5 to 3.9)	11.7 (–27.3 to 75.3)	–4.9 (–8.4 to 1.4)

vascularization in human and veterinary medicine are complex, and findings in the literature are inconsistent, and therefore assumptions should be avoided.

The clinical relevance of volume changes during RT is poorly understood. In extremity soft tissue sarcomas in humans, volume increase (requiring plan adaptation) is reported during pre-operative RT, but increased volume is not definitively associated with worse surgical outcomes.<sup>49,50</sup> Apparent tumor volume may increase because of edema, necrosis, and inflammation rather than progressive disease, a phenomenon called pseudoprogession. We found no significant correlation between perfusion parameters and tumor size reduction during treatment, or between perfusion parameters and survival.

Consistent with the results presented here, a recent study reported higher volume reduction of nasal carcinomas compared to nasal sarcomas within 3 months of completing a full course of definitive megavoltage RT.<sup>14</sup> This finding could be explained by the lower perfusion of sarcomas compared to carcinomas, because the effectiveness of RT is positively associated with tumor perfusion in tumors of humans.<sup>23,51</sup> Correlations among tumor types, response to RT and survival seldom have been explored in the veterinary literature, with variable results,<sup>4,5,14,52</sup> and an early study suggested that volume reduction during RT could be associated with more aggressive tumors and inversely correlated with progression-free interval.<sup>17</sup> Sarcomas in our study generally were larger than epithelial tumors (approximately twice the size), which could have had an impact on the initial response to RT measured after administration of 12 Gy. Indeed, large tumors tend to develop hypoxic or necrotic areas, inducing resistance to RT.<sup>53</sup> Finally, the smaller volume reduction of sarcomas also could be explained by lower cell loss factor.<sup>54</sup>

Previous studies reported perfusion parameters of nasal tumors in dogs.<sup>33,39</sup> A study of 9 dogs with nasal tumors reported BF ranging from 145 to 249 mL/minute/100 g with mean and median values of 118 and 102 mL/minute/100 g, respectively.<sup>33</sup> These results are comparable to ours despite differences between DCECT acquisition protocols and data analysis. In our study, the whole tumor was contoured apart from the rostral and caudal extremities for masses longer than 4 cm. On the other hand, the previous study selected 2 small square-shaped regions of interest on a single 5-mm thickness slice to perform their perfusion analysis.<sup>33</sup> The type of computational method used in their perfusion model also was different from ours. They used a single-compartment model, which can cause an underestimation of BF, whereas we used a dual-compartment model.<sup>20</sup> Eight of their dogs had epithelial tumors and 1 dog had a sarcoma, but the perfusion parameters for each dog were not detailed.

The parameters obtained in our study differed slightly from a previous study of 11 dogs with nasal tumors (7 carcinomas and 4 sarcomas).<sup>39</sup> The authors found means for BF of 72, 69, and 51 mL/minute/100 g using 3 different perfusion software packages (including that used in our study), which were lower in comparison to BF obtained in our study (mean, 122.63 mL/minute/100 g). Similarly, means for BV using the 3 perfusion software packages were lower in comparison to that of our study (means for BV, 6.6, 6.2, and 7.7 mL/100 g<sup>39</sup>; mean BV in our study, 17.83 mL/100 g). Transit time on the other hand was similar to that found in our study (means of TT, 5.7, 6.4, and 10.2 seconds<sup>39</sup>; mean TT in our study, 8.91 seconds). Although the method of data analysis was similar, these differences could be explained by variations in tumor and arterial contouring between operators, differences in DCECT acquisition protocols or both.

Correlations between tumor perfusion parameters on DCECT and response to treatment and survival in oncology in human medicine have been inconsistent. However, most studies found that head and neck tumors with high pre-treatment BV and BF had better prognoses, both in terms of response to treatment and survival time.<sup>51,55-59</sup> A large reduction of BF and BV during chemoradiation also generally is associated with good local control.<sup>23,59,60</sup>

In humans, DCECT also has been used to predict tumor grade,<sup>61-65</sup> define tumor margins and detect local tumor recurrence,<sup>25,66</sup> differentiate benign from malignant lesions,<sup>67,68</sup> and detect lymph node metastases.<sup>69</sup>

In veterinary medicine, DCECT mostly has been used for fundamental research and proof of concept.<sup>36,38,39,41</sup> The largest clinical study described 34 dogs with brain tumors treated using stereotactic RT and showed that BV and BF decreased significantly between baseline and 3-month follow-up DCECT.<sup>40</sup> No association however was identified between perfusion parameters and survival. For nasal tumors, 2 studies reported non-specific changes in perfusion during RT in 12 dogs.<sup>33,41</sup> However, neither study compared perfusion parameters to tumor type, response to treatment or survival.

One unexpected and interesting finding of our study is the negative association between the weight of the dog and both BF and BV. This observation could be explained by the fact that smaller dogs tend to have smaller nasal cavities and possibly smaller tumors. Large tumors can overgrow their neovascularization capabilities and develop hypoperfused and necrotic areas, decreasing the overall perfusion parameters of the tumor. Alternately, this association could also be a consequence of technical differences in the perfusion analysis between small and large dogs, particularly in terms of vessel

segmentation for the arterial input function. Partial volume effect might have been higher in small dogs, artifactually decreasing BF and BV in this population.

Our study had some limitations. The overall number of dogs recruited was small, especially when divided into the different histological categories. In addition, obtaining an accurate histological diagnosis can be challenging with small tissue samples from nasal biopsies and some of the cases could have been misclassified. The number of dogs receiving RT was even smaller, and although all RT plans were similar and performed by the same radiation oncologist, the variety of treatments used in our population highly biased our survival analysis. Additional studies with higher numbers of dogs and standardized treatments would be interesting to further assess the potential value of perfusion parameters in dogs with nasal tumors.

Some dogs received anti-inflammatory drugs before the first and repeat DCECT, or before both; others did not. The effects of anti-inflammatory drugs on DCECT perfusion parameters have not been studied, but their anti-cyclooxygenase activity has an anti-angiogenic action that could be responsible for changes in perfusion parameters.<sup>70</sup>

The DCECT protocol used in our study meets the recommendations for use in humans except for injection rates of contrast medium and saline irrigation. Indeed, because of catheter size limitations leading to excessive pressure during injection, we could not meet the recommended 4 to 8 mL/second injection rate and instead used 3 mL/second. However, the smaller size of dogs compared to human beings likely balances out this limitation.

Intra- and inter-observer variability were not calculated in our study but would have been interesting, especially because it represents the highest contributor to overall variability in DCE-CT.<sup>71</sup> A previous study found a coefficient of variation within patients ranging from 22% to 30% because of variability of arterial input function area under the curve and variability in tumor area under the curve.<sup>39</sup> On the other hand, patient blood pressure was not found to have a significant impact on the perfusion analysis. Finally, a peripheral sliver of neoplastic tissue was omitted from the contouring so as not to include peri-tumoral bone tissue in the perfusion analysis. Although this was unavoidable, it could have changed the overall perfusion analysis of the mass, especially in small dogs.

In conclusion, we showed that nasal sarcomas have lower BV and BF than nasal carcinomas and that epithelial tumors experience a decrease in volume early in the course of RT whereas sarcomas tend to grow. This information could facilitate further understanding of tumor vascularization and its implications for response to treatment, and provide more accurate prognostic information that potentially could improve treatment of nasal tumors.

#### ACKNOWLEDGMENT

Funding provided by a research grant from the Université de Liège. Part of this study was presented at the Congrès d'Imagerie Vétérinaire Francophone 2019 (Bordeaux, France), at the FARAH day 2019 (Liège, Belgium) and at the EAVDI-BID meeting 2022 (Warwick, UK).

#### CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

Authors declare no conflict of interest.

#### OFF-LABEL ANTIMICROBIAL DECLARATION

Authors declare no off-label use of antimicrobials.

#### INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE (IACUC) OR OTHER APPROVAL DECLARATION

Approved by the Committee on Research Ethics at the Institute of Veterinary Science of the University of Liverpool (VREC560a).

#### HUMAN ETHICS APPROVAL DECLARATION

Authors declare human ethics approval was not needed for this study.

#### ORCID

Jeremy R. Mortier  <https://orcid.org/0000-0002-4741-7685>

#### REFERENCES

- Madewell BR, Priester WA, Gillette EL, Snyder SP. Neoplasms of the nasal passages and paranasal sinuses in domesticated animals as reported by 13 veterinary colleges. *Am J Vet Res.* 1976;37(7):851-856.
- Buchholz J, Hagen R, Leo C, et al. 3D conformal radiation therapy for palliative treatment of canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009;50(6):679-683.
- Mason SL, Maddox TW, Lillis SM, Blackwood L. Late presentation of canine nasal tumours in a UK referral hospital and treatment outcomes. *J Small Anim Prac.* 2013;54(7):347-353.
- Sones E, Smith A, Schleis S, et al. Survival times for canine intranasal sarcomas treated with radiation therapy: 86 cases (1996-2011). *Vet Radiol Ultrasound.* 2013;54(2):194-201.
- Kubicek L, Milner R, An Q, et al. Outcomes and prognostic factors associated with canine sinonasal tumors treated with curative intent cone-based stereotactic radiosurgery (1999-2013). *Vet Radiol Ultrasound.* 2016;57(3):331-340.
- Thrall DE, McEntee MC, Novotney C, Hauck ML, Page RL. A boost technique for irradiation of malignant canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 1993;34(4):295-300.
- Morris JS, Dunn KJ, Dobson JM, White RAS. Effects of radiotherapy alone and surgery and radiotherapy on survival of dogs with nasal tumours. *J Small Anim Prac.* 1994;35(11):567-573.
- Tan-Coleman B, Lyons J, Lewis C, Rosenberg M, Ruiz A. Prospective evaluation of a 5 × 4 Gy prescription for palliation of canine nasal tumors. *Vet Rad Ultrasound.* 2013;54(1):89-92.
- Glasser SA, Charney S, Dervisis NG, et al. Use of an image-guided robotic radiosurgery system for the treatment of canine nonlymphomatous nasal tumors. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2014;50(2):96-104.
- Gieger TL, Nolan MW. Linac-based stereotactic radiation therapy for canine non-lymphomatous nasal tumours: 29 cases (2013-2016). *Vet Comp Oncol.* 2018;16(1):68-75.
- Mayer MN, DeWalt JO, Sidhu N, Mauldin GN, Waldner CL. Outcomes and adverse effects associated with stereotactic body radiation therapy in dogs with nasal tumors: 28 cases (2011-2016). *J Am Vet Med Assoc.* 2019;254(5):602-612.
- Fox-Alvarez S, Shiomitsu K, Lejeune AT, Szivek A, Kubicek L. Outcome of intensity-modulated radiation therapy-based stereotactic radiation therapy for treatment of canine nasal carcinomas. *Vet Rad Ultrasound.* 2020;61(3):370-378.
- Galloway A, Lana S, Thamm D, Boss K. Outcome and metastatic behavior of canine sinonasal osteosarcoma (2005-2015). *J Am Anim Hosp Assoc.* 2020;56(2):98-105.

14. Morgan MJ, Lurie DM, Villamil AJ. Evaluation of tumor volume reduction of nasal carcinomas versus sarcomas in dogs treated with definitive fractionated megavoltage radiation: 15 cases (2010-2016). *BMC Res Notes*. 2018;11(1):1-6.
15. Fan VC, Mayer MN, Sukut SL, Gustafson NR, Mauldin GN, Waldner CL. Retrospective survey of owners' experiences with palliative radiation therapy for pets. *J Am Vet Med Assoc*. 2018;253(3):307-314.
16. Nguyen SM, Thamm DH, Vail DM, London CA. Response evaluation criteria for solid tumours in dogs (v1.0): A Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Vet Comp Oncol*. 2015;13(3):176-183.
17. Nell E, Ober C, Rendahl A, Forrest L, Lawrence J. Volumetric tumor response assessment is inefficient without overt clinical benefit compared to conventional, manual veterinary response assessment in canine nasal tumors. *Vet Rad Ultrasound*. 2020;61(5):592-603.
18. Miles KA, Lee TY, Goh V, et al. Current status and guidelines for the assessment of tumour vascular support with dynamic contrast-enhanced computed tomography. *Eur Radiol*. 2012;22(7):1430-1441.
19. Cuenod CAA, Balvay D. Perfusion and vascular permeability: basic concepts and measurement in DCE-CT and DCE-MRI. *Diagn Interv Imaging*. 2013;94(12):1187-1204.
20. Garcia-Figueiras R, Goh VJ, Padhani AR, et al. CT perfusion in oncologic imaging: a useful tool? *Am J Roentgenol*. 2013;200(1):8-19.
21. Vaupel P. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Semin Radiat Oncol*. 2004;14(3):198-206.
22. Razek AAKA, Tawfik AM, Elsorogy LGA, Soliman NY. Perfusion CT of head and neck cancer. *Eur J Radiol*. 2014;83(3):537-544.
23. Preda L, Calloni SF, Moscatelli MEM, Cossu Rocca M, Bellomi M. Role of CT perfusion in monitoring and prediction of response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Res Int*. 2014;2014:917150.
24. Petralia G, Bonello L, Viotti S, Preda L, D'Andrea G, Bellomi M. CT perfusion in oncology: how to do it. *Cancer Imaging*. 2010;10(1):8-19.
25. Troeltzsch D, Niehues SM, Fluegge T, et al. The diagnostic performance of perfusion CT in the detection of local tumor recurrence in head and neck cancer. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2020;76(2):171-177.
26. Yoon S, Alfajaro MM, Cho KO, et al. Perfusion change in benign prostatic hyperplasia before and after castration in a canine model: contrast enhanced ultrasonography and CT perfusion study. *Theriogenology*. 2020;156:97-106.
27. Lee SK, Jang Y, Jung J w, Je H, Choi J. Comparison of renal blood flow using maximum slope-based computed tomography perfusion and ultrasound flow probe in healthy dogs. *Front Vet Sci*. 2020;7(October):1-8.
28. Kishimoto M, Tsuji Y, Katabami N, et al. Measurement of canine pancreatic perfusion using dynamic computed tomography: influence of input-output vessels on deconvolution and maximum slope methods. *Eur J Radiol*. 2011;77(1):175-181.
29. Kishimoto M, Yamada K, Seok JS, et al. Analysis of blood flow in a third ventricular ependymoma and an olfactory bulb meningioma by using perfusion computed tomography. *J Vet Med Sci*. 2008;70(9):981-983.
30. Nitzl D, Ohlerth S, Mueller-Schwandt F, Angst A, Roos M, Kaser-Hotz B. Dynamic computed tomography to measure tissue perfusion in spontaneous canine tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2009;50(4):347-352.
31. Nabavi DG, Cenic A, Dool J, et al. Quantitative assessment of cerebral hemodynamics using CT: stability, accuracy, and precision studies in dogs. *J Comput Assist Tomogr*. 1999;23(4):506-515.
32. Groothuis DR, Lapin GD, Vriesendorp FJ, Mikhael MA, Patlak CS. A method to quantitatively measure transcapillary transport of iodinated compounds in canine brain tumors with computed tomography. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1991;11(6):939-948.
33. Camp S, Fisher P, Thrall DE. Dynamic CT measurement of contrast medium washin kinetics in canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2000;41(5):403-408.
34. Park S, Jung JW, Je H, Jang Y, Choi J. Effect of slice thickness on computed tomographic perfusion analysis of the pancreas in healthy dogs. *Am J Vet Res*. 2020;81(9):732-738.
35. Peterson KL, MacLeod AG, Wisner ER, Larson RF, Pollard RE. Quantitative assessment of blood volume, blood flow, and permeability of the brain of clinically normal dogs by use of dynamic contrast-enhanced computed tomography. *Am J Vet Res*. 2008;69(1):45-50.
36. Malinen E, Rødal J, Knudtsen IS, Søvik Å, Skogmo HK. Spatiotemporal analysis of tumor uptake patterns in dynamic (18)FDG-PET and dynamic contrast enhanced CT. *Acta Oncol*. 2011;50(6):873-882.
37. MacLeod AG, Dickinson PJ, LeCouteur RA, Higgins RJ, Pollard RE. Quantitative assessment of blood volume and permeability in cerebral mass lesions using dynamic contrast-enhanced computed tomography in the dog. *Acad Radiol*. 2009;16(10):1187-1195.
38. Hansen AE, Kristensen AT, Law I, McEvoy FJ, Kjær A, Engelholm SA. Multimodality functional imaging of spontaneous canine tumors using 64Cu-ATSM and 18FDG PET/CT and dynamic contrast enhanced perfusion CT. *Radiother Oncol*. 2012;102(3):424-428.
39. la Fontaine MD, McDaniel LS, Kubicek LN, Chappell RJ, Forrest LJ, Jeraj R. Patient characteristics influencing the variability of distributed parameter-based models in DCE-CT kinetic analysis. *Vet Comp Oncol*. 2017;15(1):105-117.
40. Zwingenberger AL, Pollard RE, Taylor SL, Chen RX, Nunley J, Kent MS. Perfusion and volume response of canine brain tumors to stereotactic radiosurgery and radiotherapy. *J Vet Intern Med*. 2016;30(3):827-835.
41. Rødal J, Rusten E, Søvik Å, Skogmo HK, Malinen E. Functional imaging to monitor vascular and metabolic response in canine head and neck tumors during fractionated radiotherapy. *Acta Oncol*. 2013;52(7):1293-1299.
42. Zwingenberger AL, Shofer FS. Dynamic computed tomographic quantitation of hepatic perfusion in dogs with and without portal vascular anomalies. *Am J Vet Res*. 2007;68(9):970-974.
43. Adams WM, Kleiter MM, Thrall DE, et al. Prognostic significance of tumor histology and computed tomographic staging for radiation treatment response of canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2009;50(3):330-335.
44. Skinner OT, Boston SE, Giglio RF, Whitley EM, Colee JC, Porter EG. Diagnostic accuracy of contrast-enhanced computed tomography for assessment of mandibular and medial retropharyngeal lymph node metastasis in dogs with oral and nasal cancer. *Vet Comp Oncol*. 2018;16(4):562-570.
45. Kneissl S, Probst A. Magnetic resonance imaging features of presumed normal head and neck lymph nodes in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2006;47(6):538-541.
46. Patnaik AK, Lieberman PH, Erlandson RA, Liu SK. Canine sinonasal skeletal neoplasms: chondrosarcomas and osteosarcomas. *Vet Pathol*. 1984;21(5):475-482.
47. Koyasu S, Tsuji Y, Harada H, et al. Evaluation of tumor-associated stroma and its relationship with tumor hypoxia using dynamic contrast-enhanced CT and 18F Misonidazole PET in murine tumor models. *Radiology*. 2016;278(3):734-741.
48. Qi Q, Yeung TPC, Lee TY, et al. Evaluation of CT perfusion biomarkers of tumor hypoxia. *PLoS One*. 2016;11(4):1-11.
49. le Grange F, Cassoni AM, Seddon BM. Tumour volume changes following pre-operative radiotherapy in borderline resectable limb and trunk soft tissue sarcoma. *Eur J Surg Oncol*. 2014;40(4):394-401.
50. Haas RL, van Beek S, Betgen A, et al. Substantial volume changes and plan adaptations during preoperative radiation therapy in extremity soft tissue sarcoma patients. *Pract Radiat Oncol*. 2019;9(2):115-122.
51. Hermans R, Meijerink M, van den Bogaert W, Rijnders A, Weltens C, Lambin P. Tumor perfusion rate determined noninvasively by dynamic

- computed tomography predicts outcome in head-and-neck cancer after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;57(5):1351-1356.
52. Lawrence JA, Forrest LJ, Turek MM, et al. Proof of principle of ocular sparing in dogs with sinonasal tumors treated with intensity-modulated radiation therapy. *Vet Radiol Ultrasound.* 2010;51(5):561-570.
  53. Hirata E, Sahai E. Tumor microenvironment and differential responses to therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017;7(7):1-14.
  54. Tubiana M. Tumor cell proliferation kinetics and tumor growth rate. *Acta Oncol.* 1989;28:113-121.
  55. Tuntiyatorn L, Fusuwanakaya E, Sawangsilpa T, Bhongmakapat T. CT perfusion in predicting treatment response of nasopharyngeal carcinoma. *J Med Assoc Thai.* 2014;97(3):333-341.
  56. Zima A, Carlos R, Gandhi D, Case I, Teknos T, Mukherji SK. Can pretreatment CT perfusion predict response of advanced squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract treated with induction chemotherapy? *Am J Neuroradiol.* 2007;28(2):328-334.
  57. Bisdas S, Rumboldt Z, Surlan-Popovic K, et al. Perfusion CT in squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: long-term predictive value of baseline perfusion CT measurements. *Am J Neuroradiol.* 2010;31(3):576-581.
  58. Bisdas S, Nguyen SA, Anand SK, Glavina G, Day T, Rumboldt Z. Outcome prediction after surgery and chemoradiation of squamous cell carcinoma in the oral cavity, oropharynx, and hypopharynx: use of baseline perfusion CT microcirculatory parameters vs. tumor volume. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;73(5):1313-1318.
  59. Truong MT, Saito N, Ozonoff A, et al. Prediction of locoregional control in head and neck squamous cell carcinoma with serial CT perfusion during radiotherapy. *Am J Neuroradiol.* 2011;32(7):1195-1201.
  60. Surlan-Popovic K, Bisdas S, Rumboldt Z, Koh TS, Strojjan P. Changes in perfusion CT of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck treated during the course of concomitant chemoradiotherapy. *Am J Neuroradiol.* 2010;31(3):570-575.
  61. Chen C, Kang Q, Wei Q, et al. Correlation between CT perfusion parameters and Fuhrman grade in pT1b renal cell carcinoma. *Abdom Radiol.* 2017;42(5):1464-1471.
  62. SK E, Ramesh D, Kailasanathan N. The role of CT perfusion parameters in grading of brain gliomas in correlation with histopathology. *Int J Contemp Med Res.* 2017;4(2):540-544.
  63. Wang J, Tang Z, Wang S, et al. Differential diagnostic value of computed tomography perfusion combined with vascular endothelial growth factor expression in head and neck lesions. *Oncol Lett.* 2016;11(5):3342-3348.
  64. Sun ZQ, Cheng XF, Ge YX, et al. Role of CT perfusion imaging in patients with variously differentiated gastric adenocarcinoma. *J Xray Sci Technol.* 2015;23(6):737-744.
  65. Maarouf R, Sakr H. A potential role of CT perfusion parameters in grading of brain gliomas. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2015;46(4):1119-1128.
  66. Smolarz BM, Pihno A, Lehnert NC, et al. Quantitative measurements of perfusion and permeability of oropharyngeal and oral cavity cancer, recurrent disease, and associated lymph nodes using first-pass contrast-enhanced computed tomography studies. *Invest Radiol.* 2007;42(3):172-179.
  67. Li JP, Feng GL, Li DQ, et al. Detection and differentiation of early hepatocellular carcinoma from cirrhosis using CT perfusion in a rat liver model. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2016;15(6):612-618.
  68. Thaiss WM, Kaufmann S, Kloth C, Nikolaou K, Bösmüller H, Horger M. VEGFR-2 expression in HCC, dysplastic and regenerative liver nodules, and correlation with pre-biopsy dynamic contrast enhanced CT. *Eur J Radiol.* 2016;85(11):2036-2041.
  69. Trojanowska A, Trojanowski P, Bisdas S, et al. Squamous cell cancer of hypopharynx and larynx – evaluation of metastatic nodal disease based on computed tomography perfusion studies. *Eur J Radiol.* 2012;81(5):1034-1039.
  70. Mander K, Finnie J. Tumour angiogenesis, anti-angiogenic therapy and chemotherapeutic resistance. *Aust Vet J.* 2018;96:371-378.
  71. Ng CS, Wei W, Ghosh P, Anderson E, Herron DH, Chandler AG. Observer variability in CT perfusion parameters in primary and metastatic tumors in the lung. *Technol Cancer Res Treat.* 2018;17:1-9.

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Mortier JR, Maddox TW, Blackwood L, La Fontaine MD, Busoni V. Dynamic contrast-enhanced computed tomography in dogs with nasal tumors. *J Vet Intern Med.* 2023;1-9. doi:10.1111/jvim.16722

## ———— Section expérimentale

### Étude 2 :

Les valeurs des paramètres dérivés du scanner de perfusion, initiaux et durant radiothérapie, des tumeurs cérébrales canines suspectées, pourraient être différents selon la localisation de la tumeur, mais ne sont pas associés à la survie.

---

## Résumé

*Le traitement des tumeurs cérébrales chez le chien peut être associé à une morbidité importante et il n'existe pas de facteurs pronostiques fiables. Le scanner de perfusion (DCECT) peut être utilisé pour évaluer la perfusion tumorale. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer les valeurs des paramètres de perfusion et le changement de taille de tumeurs cérébrales suspectées avant et pendant la radiothérapie (RT) en fonction de leur localisation, et de chercher une corrélation potentielle avec le temps de survie. Dix-sept chiens présentant des tumeurs cérébrales suspectées ont été recrutés de manière prospective. Tous les chiens ont subi un DCECT initial afin d'évaluer la taille de la masse, le volume sanguin (BV), le débit sanguin (BF) et le temps de transit (TT). Douze chiens ont subi un DCECT de contrôle après 12 Gy de RT mégavoltage. Les temps de survie ont été calculés. Les masses intra-axiales avaient un BF ( $p = 0,005$ ) et un BV ( $p < 0,001$ ) plus faibles que les masses extra-axiales, mais pas que les masses hypophysaires. Les masses hypophysaires avaient un BF ( $p = 0,001$ ) et un BV ( $p = 0,004$ ) plus faibles que les masses extra-axiales. Le volume de la masse était positivement associé au TT ( $p = 0,001$ ) mais pas au BF et au BV. Les masses intra-axiales ont montré une diminution de taille plus marquée que les masses extra-axiales et hypophysaires pendant la RT ( $p = 0,022$  pour la longueur,  $p = 0,05$  pour la hauteur). Les masses extra-axiales ont montré une diminution plus importante du BF ( $p = 0,011$ ) et du BV ( $p = 0,012$ ) pendant la RT que les masses hypophysaires et les masses intra-axiales. Les chiens les plus lourds ont présenté un temps de survie plus court ( $p = 0,011$ ). Les valeurs des paramètres de perfusion n'étaient pas corrélées au temps de survie. Les valeurs des paramètres de perfusion dérivés du DCECT et le changement de taille des masses cérébrales pendant la RT pourraient être différents en fonction de la localisation de la masse.*

## ———— Section expérimentale

### Étude 2 :

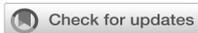
Dynamic contrast-enhanced computed tomography perfusion parameters of canine suspected brain tumors at baseline and during radiotherapy might be different depending on tumor location but not associated with survival

———— Frontiers in Veterinary Science 10:1-9

J. Mortier, T. Maddox, L. Blackwood, M.D. La Fontaine, V. Busoni

## ***Abstract***

*Treatment of brain tumors in dogs can be associated with significant morbidity and reliable prognostic factors are lacking. Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) can be used to assess tumor perfusion. The objectives of this study were to assess perfusion parameters and change in size of suspected brain tumors before and during radiotherapy (RT) depending on their location and find a potential correlation with survival. Seventeen client-owned dogs with suspected brain tumors were prospectively recruited. All dogs had a baseline DCECT to assess mass size, blood volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT). Twelve dogs had a repeat DCECT after 12 Gy of megavoltage RT. Survival times were calculated. Intra-axial masses had lower BF ( $p = 0.005$ ) and BV ( $p < 0.001$ ) than extra-axial masses but not than pituitary masses. Pituitary masses had lower BF ( $p = 0.001$ ) and BV ( $p = 0.004$ ) than extra-axial masses. The volume of the mass was positively associated with TT ( $p = 0.001$ ) but not with BF and BV. Intra-axial masses showed a more marked decrease in size than extra-axial and pituitary masses during RT ( $p = 0.022$  for length,  $p = 0.05$  for height). Extra-axial masses showed a greater decrease in BF ( $p = 0.011$ ) and BV ( $p = 0.012$ ) during RT than pituitary masses and intra-axial masses. Heavier dogs had a shorter survival time ( $p = 0.011$ ). Perfusion parameters were not correlated with survival. DCECT perfusion parameters and change in size of brain masses during RT might be different based on the location of the mass.*



## OPEN ACCESS

## EDITED BY

Laura Elizabeth Selmic,  
The Ohio State University, United States

## REVIEWED BY

Giovanni Mогicato,  
Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
(ENVT), France  
Theresa Elizabeth Pancotto,  
Virginia Tech, United States

## \*CORRESPONDENCE

Jeremy R. Mortier  
✉ jeremy.mortier@vet-alfort.fr

## †PRESENT ADDRESS

Jeremy R. Mortier,  
École Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort,  
Paris, France

RECEIVED 04 March 2023

ACCEPTED 10 April 2023

PUBLISHED 28 April 2023

## CITATION

Mortier JR, Maddox TW, Blackwood L, La  
Fontaine MD and Busoni V (2023) Dynamic  
contrast-enhanced computed tomography  
perfusion parameters of canine suspected  
brain tumors at baseline and during  
radiotherapy might be different depending on  
tumor location but not associated with survival.  
*Front. Vet. Sci.* 10:1179762.  
doi: 10.3389/fvets.2023.1179762

## COPYRIGHT

© 2023 Mortier, Maddox, Blackwood, La  
Fontaine and Busoni. This is an open-access  
article distributed under the terms of the  
[Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).  
The use, distribution or reproduction in other  
forums is permitted, provided the original  
author(s) and the copyright owner(s) are  
credited and that the original publication in this  
journal is cited, in accordance with accepted  
academic practice. No use, distribution or  
reproduction is permitted which does not  
comply with these terms.

# Dynamic contrast-enhanced computed tomography perfusion parameters of canine suspected brain tumors at baseline and during radiotherapy might be different depending on tumor location but not associated with survival

Jeremy R. Mortier<sup>1,2\*†</sup>, Thomas W. Maddox<sup>1</sup>, Laura Blackwood<sup>1</sup>,  
Matthew D. La Fontaine<sup>3</sup> and Valeria Busoni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Small Animal Teaching Hospital, Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Neston, United Kingdom, <sup>2</sup>Diagnostic Imaging Section, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Liège, Belgium, <sup>3</sup>The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, Netherlands

**Introduction:** Treatment of brain tumors in dogs can be associated with significant morbidity and reliable prognostic factors are lacking. Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) can be used to assess tumor perfusion. The objectives of this study were to assess perfusion parameters and change in size of suspected brain tumors before and during radiotherapy (RT) depending on their location and find a potential correlation with survival.

**Methods:** Seventeen client-owned dogs with suspected brain tumors were prospectively recruited. All dogs had a baseline DCECT to assess mass size, blood volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT). Twelve dogs had a repeat DCECT after 12Gy of megavoltage RT. Survival times were calculated.

**Results:** Intra-axial masses had lower BF ( $p=0.005$ ) and BV ( $p<0.001$ ) than extra-axial masses but not than pituitary masses. Pituitary masses had lower BF ( $p=0.001$ ) and BV ( $p=0.004$ ) than extra-axial masses. The volume of the mass was positively associated with TT ( $p=0.001$ ) but not with BF and BV. Intra-axial masses showed a more marked decrease in size than extra-axial and pituitary masses during RT ( $p=0.022$  for length,  $p=0.05$  for height). Extra-axial masses showed a greater decrease in BF ( $p=0.011$ ) and BV ( $p=0.012$ ) during RT than pituitary masses and intra-axial masses. Heavier dogs had a shorter survival time ( $p=0.011$ ). Perfusion parameters were not correlated with survival.

**Conclusion:** DCECT perfusion parameters and change in size of brain masses during RT might be different based on the location of the mass.

## KEYWORDS

perfusion parameters, dynamic contrast enhanced computed tomography, brain tumor, dogs, radiotherapy, response to treatment

## 1. Introduction

Brain tumors are a common cause of central neurological signs in dogs and associated with high morbidity (1). Radiotherapy (RT) (with or without surgical excision) or debulking is widely recognized as the treatment of choice, both to alleviate clinical signs and improve survival time (2–11). The survival advantage of surgery is controversial, and surgery is technically demanding and associated with significant morbidity (12–14). Survival times after RT are variable and affected by both treatment and tumor type, but a recent systematic review reported median survival times of 348 days, 226 days and 351 days for the extra-axial, intra-axial and pituitary masses, respectively (15). Radiotherapy is expensive, constraining for clients and can be associated with significant side effects due to early and late radiation toxicity (16, 17). It is therefore vital to find or develop good prognostic factors that would allow for optimal patient selection. Very few imaging-derived characteristics have been associated with the prognosis, although it seems that large masses (2, 7, 18), poorly defined and irregular margins, T2w heterogeneity, presence of drop metastasis (19), mass effect, and cyst-like lesions are negative prognostic factors (7). A decrease in size of the mass at 6 weeks after RT is also associated with a longer survival (20).

In human medicine, functional imaging is increasingly used in the diagnosis, treatment planning and prognostication of brain tumors, and includes magnetic resonance spectroscopy, diffusion-weighted magnetic resonance imaging (MRI), perfusion-weighted MRI and dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) (21, 22). Dynamic contrast-enhanced computed tomography provides quantitative information about tumor physiology that cannot be obtained using conventional imaging, in particular the blood volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT) of masses. In human medicine, it can be used to refine grading and prognostication of brain tumors, as well as assessing response to treatment (23, 24). To date, two studies in veterinary medicine described the use of DCECT in dogs with cerebral mass lesions, showing promising results in differentiating the type of masses and in assessing response to treatment (25, 26).

The aims of this study were (1) to compare DCECT-derived perfusion parameters among intra-axial, extra-axial and pituitary tumors, (2) to assess if pretreatment perfusion parameters are associated with survival, and (3) to describe early changes in perfusion parameters and size of the masses during RT in a subset of them. Our hypotheses were that extra-axial and pituitary tumors will have higher BF and BV than intra-axial tumors, that baseline perfusion parameters might be associated with survival time and that we can observe early changes in perfusion parameters and mass volume during RT.

## 2. Materials and methods

This is a prospective cross-sectional study. Ethical approval was granted by the Committee on Research Ethics at the Institute of Veterinary Science of the University of Liverpool (VREC560a).

Abbreviations: BF, blood flow; BV, blood volume/fractional vascular volume; CT, computed tomography; CTV, clinical target volume; DCECT, dynamic contrast-enhanced computed tomography; GTV, gross tumor volume; MRI, magnetic resonance imaging; PTV, planning target volume; TT, transit time; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drugs; RT, radiotherapy.

### 2.1. Case selection

Client-owned dogs presented to the Small Animal Teaching Hospital (SATH) of the University of Liverpool for suspected brain tumors were prospectively enrolled from January 2017 to January 2020. Owner consent allowing for diagnostic tests including DCECT was obtained before inclusion into the study. To meet the inclusion criteria, dogs must have a brain mass on MRI and a presumptive diagnosis of brain tumor made by the attending board-certified radiologist and neurologist based on the imaging and clinical findings, but a final diagnosis of brain tumor made by histology was not necessary. Dogs must have undergone at least a baseline DCECT. Dogs who had already received RT, surgery or chemotherapy were excluded. Dogs receiving other non-chemotherapeutic medical treatments for their neurological signs (anti-inflammatory and anti-epileptic medication) were not excluded.

### 2.2. Clinical data

Treatment received at the time of DCECT, heart rate and systolic blood pressure during DCECT, treatment administered to treat the suspected brain tumor and survival time from the referral consultation were recorded. Treatment administered before the consultation was categorized as corticosteroids, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and other (paracetamol, anti-epileptic medication, trilostane) or none. Treatments received for the brain mass were categorized as RT or palliative (1 dog).

### 2.3. Dynamic contrast-enhanced computed tomography

All dogs were anesthetized. Premedication varied depending on the attending anesthetist, but most dogs received medetomidine (0.003 to 0.01 mg/kg) in association with butorphanol, lidocaine, buprenorphine or methadone. One dog received acepromazine (0.03 mg/kg) instead of medetomidine. Dogs were then induced using propofol or alfaxalone (to effect) and anesthesia was maintained using sevoflurane. Dynamic contrast-enhanced CT was performed using an 80-slice CT scan (Aquilion Prime 80, Canon Medical System) with dogs in sternal recumbency. Dogs for which owners elected for RT were positioned using a thermoplastic mask and a bite block as part as the RT planning (25).

Pre-contrast scans of the head were performed. Scanning parameters were 120 kV, variable mAs using Automatic Exposure Control, pitch factor 0.625, and images were reconstructed at 1 mm slice thickness using bone and soft tissue reconstruction algorithms. Dynamic contrast-enhanced CT planning was done using the pre-contrast soft tissue reconstruction in a soft tissue window (window width: 200 HU, window level 40 HU). A 4-cm length field of view was chosen to include the whole mass.

A 60-s continuous scan starting with intravenous injection of 2 mL/kg body weight of iodinated contrast medium (Ioversol 300 mg/mL iodine) using a power injector set at 3 mL/s injection rate (maximal allowable injection pressure set at 150 psi) and followed by a bolus flush of saline 1 mL/kg at the same injection rate. Scanning parameters were 80 kV, 200 mA, 0.75 s rotation time, 0.5 mm scan slice

thickness, 1 s time interval and 2 mm reconstruction slice thickness. Images were reconstructed using a soft tissue reconstruction algorithm.

A post-contrast scan of the head was performed immediately after DCECT (90 s after intravenous injection of iodinated contrast medium), using the same scanning parameters as for the pre-contrast scan.

A second DCECT using the same anesthetic protocol (all under general anesthesia) and the same scanning technique was performed, after receiving 12 Gy of radiation.

## 2.4. Radiation therapy

Radiotherapy was administered using a linear accelerator (VitalBeam, Varian Medical Systems, Palo Alto, California). Definitive RT was administered with 12 fractions of 4Gy on a Monday, Wednesday, Friday basis. All treatments were carried out at 6MV and were 3D planned by a European College of Veterinary Internal Medicine board-certified veterinary oncologist and radiation oncologist (LB). Planning was performed from CT images using Eclipse 15.1 (Varian Medical Systems, Palo Alto, California), with the intention to include at least 95% of the planning treatment volume in the 95 to 105% isodose, or 97% of the planning treatment volume in the 97 to 103% isodose. Gross tumor volume (GTV) and clinical target volume (CTV) were defined using CT and MRI. Gross tumor volume was contoured based on T1-weighted (or T1-weighted after IV administration of gadolinium) images. A margin of 1–2 mm of normal tissue, including questionable tissue, was added to the GTV to create the CTV. The CTV-margin was extended three-dimensionally by 3–5 mm to define the planning target volume (PTV). Organs at risk were contoured (tympanic bullae, brain, spinal cord, optic chiasma). Plans utilized 3 to 5 coplanar beams, with beam collimation using multileaf collimator beam modification and dynamic wedges where appropriate. Dogs were immobilized as described for the CT scans. Portal imaging was carried out at least twice during the treatment protocol to verify position.

## 2.5. Images and perfusion analysis

Conventional CT images of the head were reviewed by a European College of Veterinary Diagnostic Imaging board-certified veterinary radiologist (JM) blinded to the clinical data of the dogs, using a Macintosh workstation and an image viewer (OsirixMD, Pixmeo). Images were viewed using both a soft tissue window (window width: 200 HU, window level: 40 HU) and a brain window (window width: 100 HU and window level: 50 HU). Multiplanar reconstruction was performed for each dog. Length, width, and height with planes parallel and orthogonal to those of the head were measured and the volume of the mass (using the ellipsoid formula  $V = 4/3 \times \pi \times L \times W \times H$ ) was calculated. In 2 dogs with an intra-axial lesion, the mass was not sufficiently visible on CT and T2w MRI sequences in transverse, sagittal and dorsal planes were used for initial morphological assessment. One of these dogs had a repeat DCECT but the mass could not be measured on the images. Masses were first classified as extra-axial, intra-axial or pituitary based on their location, relationship to the rest of the brain parenchyma and contrast-enhancement (Figure 1).

Dynamic contrast-enhanced CT images were analyzed using an adiabatic approximation to the tissue homogeneity (ATH) model implemented with MATLAB™ (MathWorks, Massachusetts), designed as part of a previous study (27). An arterial input function was first contoured, and a time-attenuation curve was displayed to verify it had a shape consistent with arterial blood flow. The artery selected for the arterial input function was the lingual artery as it was the largest artery that was consistently included in the field of view and not surrounded by bone. To appropriately contour the artery without selecting peripheral lingual tissue the image was zoomed in and contoured on the arterial phase (veins not contrast-enhanced). Only the center of the artery was included when possible. The brain mass was then contoured manually slice by slice on every slice containing suspected tumoral tissue (Figure 2). Care was taken not to include bone or cerebral vessels within the contouring. Therefore, when present, the small part of the mass in contact with a cerebral vessel was excluded from contouring. For the two intra-axial masses not clearly visible on CT, side-by-side comparison of the MRI and CT images were performed to contour the mass as accurately as possible using the perfusion software. Perfusion parameters obtained from the analysis were blood flow (volume flow rate) and transit time (TT, time to traverse vasculature). Blood volume (BV) was then calculated using the following formula:  $BV = TT \times BF$ . Perfusion analysis was performed by one trained operator (JM).

## 2.6. Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using the statistical software programs SPSS 24.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, United States) and R (R version 3.2.0, The R Foundation for Statistical Computing). Dependent (outcome) and independent variables were derived from signalment data, clinical data and CT examinations. Descriptive statistics were calculated for data as required; categorical variables were summarized as frequencies with 95% confidence intervals (95% CI) and continuous variables as medians with interquartile ranges (IQR). Categorical variables with multiple categories, categories containing small numbers, or both, were reviewed and groupings amalgamated if necessary. The distribution of continuous variables was assessed for deviation from normal both graphically and with the Kolmogorov–Smirnov test.

The three primary individual outcomes considered were BF, TT and BV, with associations between these continuous variables and the collected independent variables estimated with linear regression. All independent variables showing potential association with an outcome on univariable analysis ( $p$ -value  $< 0.25$ ) were considered for inclusion in the final multivariable model for that outcome. Variables showing evidence of correlation (correlation coefficient  $> 0.7$ ), were examined and only the variable with the smallest  $p$ -value was selected for entry in the multivariable models developed. Final models were developed with a manual backwards stepwise methodology with retention of variables with  $p$ -values  $< 0.05$ . Additionally, for the 12 dogs that were re-scanned, linear regression was used to compare the change in tumor parameters (length, width, height, volume, BF, BV, TT) between pituitary, extra- and intra-axial tumors and to evaluate associations between tumor volume and perfusion parameters (BF, BV, TT).

Survival times were calculated from the time of the first consultation at the SATH until death; dogs alive at the time of data

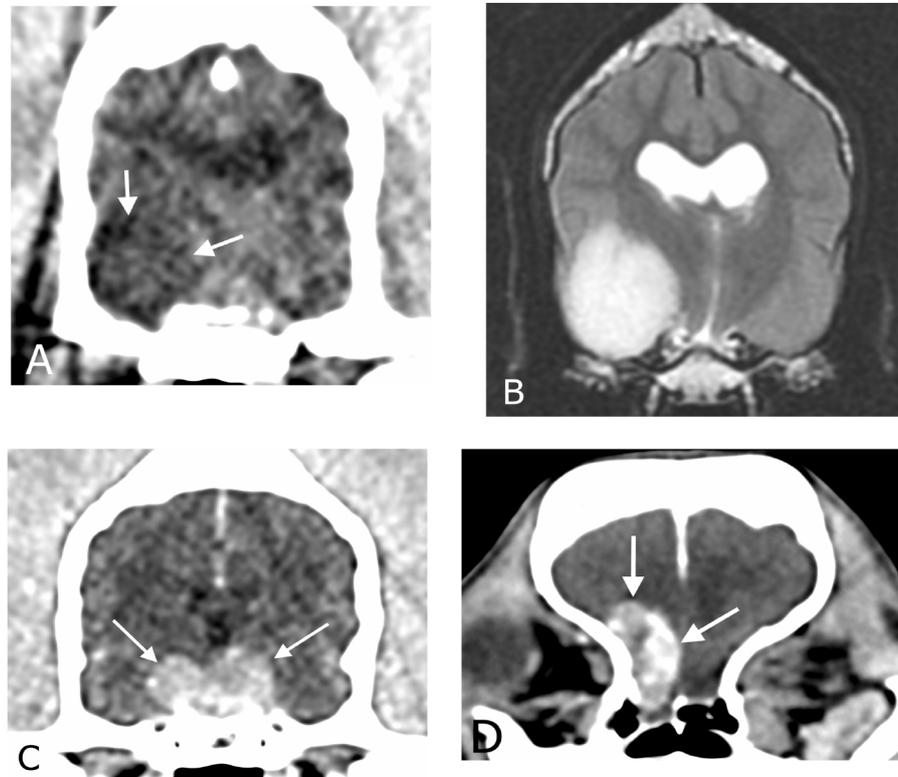


FIGURE 1

Transverse CT images in soft tissue reconstruction and brain window (WL 50 HU, WW 100HU) showing (A) an intra-axial mass, (C) a pituitary mass and (D) an extra-axial mass. (B) Transverse T2-weighted magnetic resonance image of the same intra-axial mass as in (A).

collection were considered as censored, as were dogs lost to follow-up (censored at the date of last known contact). Median survival times were calculated from Kaplan–Meier product limit (survival) analysis. Univariable comparison of survival times and associations between survival and independent variables were examined with the Log Rank test for categorical variables and Cox proportional hazard regression analysis for continuous variables. Multivariable regression models were constructed with the same approach as above, including all variables with univariable  $p$ -value  $<0.25$  and a backward stepwise approach with retention of  $p$ -values  $<0.05$ .

### 3. Results

#### 3.1. Clinical data

Seventeen dogs met the inclusion criteria. There were 4 neutered females, 3 entire males and 10 neutered males. Breeds included 4 cross breeds, 3 Staffordshire bull terriers, 2 Labrador retrievers and 1 dog of each breed including cocker spaniel, boxer, Cavalier King Charles spaniel, Dalmatian, Jack Russel terrier, pug, West Island white terrier and dachshund. Median age of the dogs was 9.9 (6.6–14.3) years; median weight was 19.9 (6.6–59.6) kg.

There were 7 pituitary masses, 6 extra-axial masses and 4 intra-axial masses. Among the extra-axial masses, 4 were localized against the basicranium, 1 at the cerebellar convexity and 1 at the cerebral convexity. Among the intra-axial masses, 2 were within the temporal cortex, 1 within the cerebellum and 1 within the thalamus.

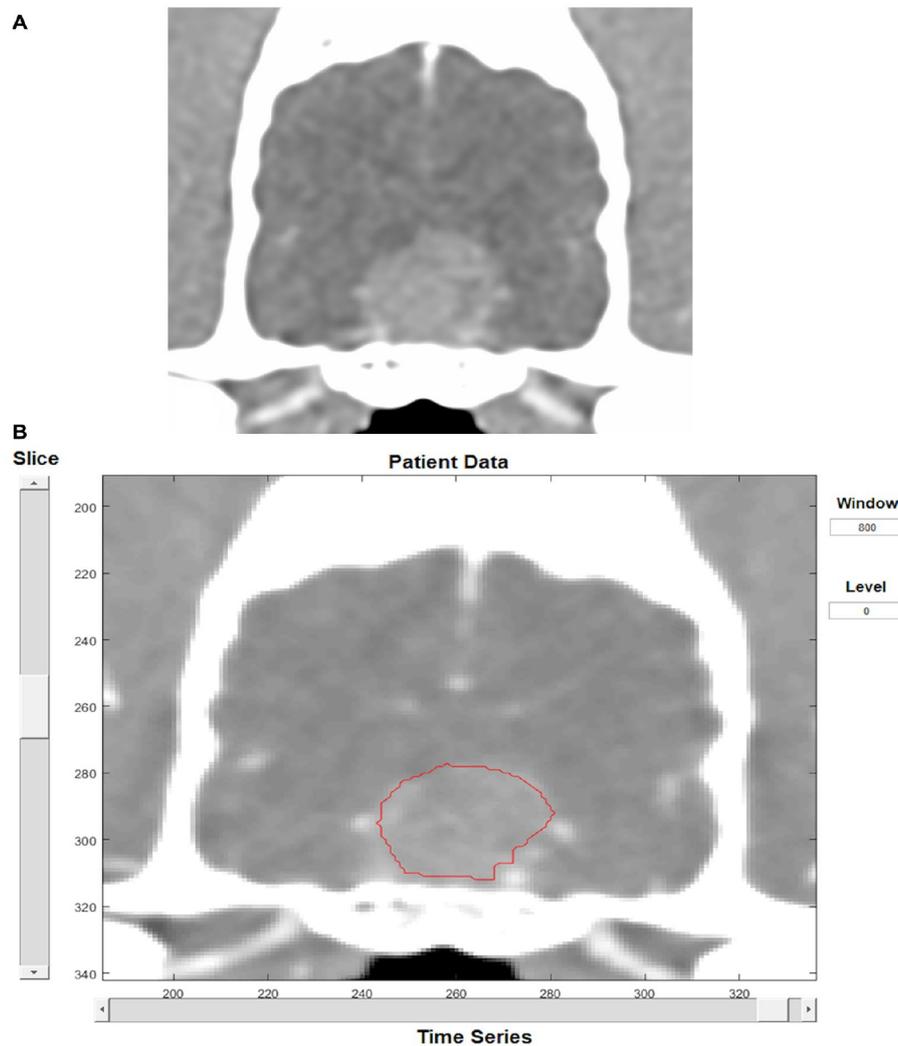
Nine dogs received corticosteroids (4 extra-axial, 2 intra-axial, 2 pituitary), 1 dog received NSAID (1 pituitary), 2 dogs received “other” treatments (one paracetamol and gabapentin; one trilostane) and 5 dogs had no treatment at the time of presentation (2 pituitary, 2 extra-axial, 1 intra-axial).

Twelve/17 dogs had repeat DCECT. There were 5 pituitary masses, 5 extra-axial masses and 2 intra-axial masses. Five dogs could not have repeat DCECT for logistical reasons. One did not receive RT, DCECT failed in 1 dog and the remaining dogs were not considered stable enough to undergo the procedure.

At repeat DCECT, 10/12 dogs were receiving corticosteroids, 1 dog was on phenobarbital (1 intra-axial) only and 1 dog was not receiving any medical treatment (1 extra-axial). Most dogs were receiving analgesics in addition to the aforementioned treatment.

Sixteen/17 dogs had RT, and 1 dog did not receive any treatment for the suspected brain tumor. Median time between first DCECT and start of RT was 6 days (3–31).

Twelve/17 dogs had a record of their heart rate during the baseline DCECT, at the time of injection of contrast medium. All were



**FIGURE 2**  
Transverse CT image in soft tissue reconstruction showing a pituitary mass (A). Same image as displayed by the perfusion software, showing tumor contouring (B).

considered appropriate by the attending anesthetist and ranged from 40 to 110bpm (median 68bpm). Similarly, systolic blood pressure was obtained for 12 dogs and ranged from 90 to 130mmHg (median 115mmHg).

### 3.2. Baseline DCECT

Median mass length, width, height, and volume were 1.4 cm (0.8–3.2), 1.2 cm (0.6–2.2), 1.2 cm (0.4–2.1) and 8.2 cm<sup>3</sup> (1.4–29.6), respectively. Median volume was 16 cm<sup>3</sup> (1.8–25.5) for pituitary masses, 9.4 cm<sup>3</sup> (1.5–15.8) for extra-axial masses, and 8 cm<sup>3</sup> (1.4–29.6) for intra-axial masses.

Median BV was 3.6 ml/100 g (0.7–11), median BF was 33.4 ml/100 g/min (2.8–116.1) and median TT was 7.2 s (4.1–15.7). Results for the different locations of masses are shown in Table 1.

Intra-axial masses had a significantly lower BF ( $p=0.005$ ) and BV ( $p<0.001$ ) than extra-axial masses but not than pituitary masses. Similarly, pituitary masses had significantly lower BF ( $p=0.001$ ) and BV ( $p=0.004$ ) than extra-axial masses. The volume of the mass was positively associated with TT ( $p=0.001$ ) but not with BF and BV. There was no statistical association between any other imaging characteristic of the masses and the perfusion parameters.

### 3.3. Repeat DCECT

Median change in volume, length, height, width for each type of mass is shown in Table 2. There were statistically significant differences in the change of length and height but not width and volume between extra-axial, intra-axial and pituitary masses during the course of RT. More specifically, intra-axial tumors showed a more marked

decrease in size than extra-axial and pituitary tumors during RT ( $p=0.022$  for the length and  $p=0.05$  for the height).

The median change in perfusion parameters for each type of mass are presented in Table 3. There were statistically significant differences in the change of BF and BV but not TT between extra-axial, intra-axial and pituitary masses during the course of RT. More specifically, extra-axial tumors showed a more marked decrease in BF ( $p=0.011$ ) and BV ( $p=0.012$ ) than pituitary tumors and intra-axial tumors.

There was no statistically significant association between tumor volume change and change in BF, BV or TT.

### 3.4. Survival analysis

At the end of the study, 11 dogs were deceased, all due to progression of their intracranial mass, and six were either still alive or lost to follow-up.

The median survival time was 186 days (95%CI 0–496) for all dogs. The only dog who did not receive RT had a survival time of 175 days. There was no statistical difference in survival time between intra-axial, extra-axial and pituitary masses.

On multivariate analysis, only the weight of the dog was associated with survival ( $p=0.011$ ). More specifically, heavier dogs had a shorter survival time. Perfusion parameters were not significantly associated with survival in the final statistical model.

## 4. Discussion

The perfusion parameters of presumed brain tumors were significantly different depending on their location. Extra-axial masses had higher BF and BV than intra-axial and pituitary masses. In the early course of RT (after administration of 12 Gy), intra-axial masses showed a greater decrease in size than masses of the other groups, and extra-axial masses had a more marked decrease in BF and BV than masses of the other groups.

A study on 16 dogs with various types of brain masses (including 3 meningiomas and 7 gliomas but no pituitary masses) showed that meningiomas had the highest BV among all masses, although their results were not statistically significant (25). The authors also found that the permeability surface area ratio (PS) was higher in meningioma than in other brain masses, but they did not calculate BF. Although the DCECT scanning protocol was similar to the one used in the present study, the method of perfusion analysis was not described in detail and may have been different, making comparisons of the results difficult. Higher BF and BV in extra-axial masses compared to intra-axial masses is consistent with expectations, as the former are located outside the blood–brain barrier, therefore tend to be hypervascular and have permeable capillaries (29). Although perfusion imaging is not commonly used to differentiate intra-axial from extra-axial masses in human medicine, their findings were comparable to those of this study (29, 30). Pituitary masses are also considered extra-axial and frequently have strong contrast enhancement (31), suggesting hypervascularity, therefore high BV and BF would have been expected. In the present study, their perfusion values were high but not significantly different from those of intra-axial masses. This may be due to the small number of cases. Perfusion imaging is rarely performed on pituitary adenomas in human beings, therefore comparison with human studies is not possible (32).

A more recent study investigated the change in volume and perfusion parameters of brain tumors (confirmed and suspected) before and approximately 3 months and 6 months after RT (26). They found a significant decrease in tumor volume, BF, BV, and PS after RT, maintained or further decreased at second recheck. These results combined with those of this study suggest that the decrease in DCECT perfusion parameters occurs early during RT and is at least maintained if not progressing further during the first 6 months after treatment.

The fact that intra-axial masses showed a greater decrease in size than extra-axial and pituitary masses was interesting and unexpected. However, this result should be interpreted with caution given the small number of dogs in this group and the technical difficulty in accurately measuring intra-axial masses on CT. Imaging follow-up

TABLE 1 Median baseline perfusion parameters of brain tumors in dogs depending on their location.

Mass location	Blood volume (min; max) (mL/100g)	Blood flow (min; max) (mL/100g/min)	Transit time (min; max) (s)
Intra-axial	1.7 (0.7; 2.5)	22.4 (2.8; 33.4)	4.8 (4.1; 5.1)
Extra-axial	7.1* (3.8; 11)	54* (34.4; 116.1)	6.9 (5.2; 9.5)
Pituitary	3.6 (1.8; 4.3)	22.6 (9.6; 50)	8.8 (4.6; 12.4)

\* $p < 0.05$ .

TABLE 2 Median change in the size of brain masses after 12Gy of radiation therapy depending on their location.

Mass location	Change in volume (min; max) (cm <sup>3</sup> )	Change in length (min; max) (cm)	Change in height (min; max) (cm)	Change in width (min; max) (cm)
Extra-axial	−1.6 (−1.7; 0.9)	0 (−0.2; 0)	0 (0; 0.6)	0 (−0.8; 0)
Intra-axial	−8.2 (−1; −0.1)	−0.3* (−1.3; −0.3)	−0.3* (−1.5; −0.3)	−0.4 (−1; −0.1)
Pituitary	−0.1 (−5; 0.1)	−0.1 (−0.3; 0.1)	0 (−0.3; 0)	−0.1 (−0.1; 0.1)

\* $p < 0.05$ .

TABLE 3 Median change in perfusion parameters of brain masses after 12Gy of radiation therapy depending on their location.

Mass location	Change in blood volume (min; max) (mL/100g)	Change in blood flow (min; max) (mL/100g/min)	Change in transit time (min; max) (s)
Extra-axial	-2.4* (-3.1; -1.4)	-24.7* (-54.6; -11.4)	1.5 (-0.42; 2.19)
Intra-axial	0.3 (0.1; 2.1)	18.2 (-2.5; 50.4)	-1.1 (-12.4; 0.6)
Pituitary	0.6 (-2.1; 1.6)	6.4 (3.7; 38.3)	-1.1 (-7.3; 1.6)

\* $p < 0.05$ .

during or after treatment of brain tumor is rare and unstandardized in veterinary research and studies assessing the association between change in volume, type of tumor and survival are scarce. It seems that a reduction in size of gliomas 6 weeks after RT is associated with longer survival (20). These results were not consistent with a previous study on various brain tumors that suggested that pituitary masses could be associated with a greater decrease in volume than other tumor types (glioma, meningioma and trigeminal nerve sheath tumors) 3 months after RT (26). It is therefore possible that gliomas have a greater initial size reduction, but that pituitary tumors have a greater delayed response. Direct tumor toxicity of RT through DNA damage is related to cell multiplication, and more aggressive tumors with fast-multiplying cells generally respond better to RT (33). On the other hand, indirect RT toxicity through its action on tumor microenvironment (such as vascularization and local immune system) could explain a delayed response (34). It could be hypothesized that the intra-axial masses in this study could be more aggressive than the extra-axial and pituitary masses, therefore have a better early response to treatment but also a faster tumor repopulation.

Extra-axial masses had a greater decrease in BF and BV during RT than the other tumor groups. This could simply be explained by the fact that extra-axial masses were more perfused at baseline, therefore the toxicity of RT on vascularity could have been more pronounced in this group. However, the response of the tumor microenvironment to RT is a complex and still poorly understood topic, and oversimplified assumptions should be avoided. Relationships between baseline perfusion parameters, their variation after treatment and prognosis have been investigated in people with high-grade gliomas. High-grade gliomas tend to have higher baseline perfusion parameters than low-grade gliomas, while lower post-treatment perfusion parameters were associated with a better prognosis (23, 24, 35–39). In the current study, the fact that the baseline and follow-up perfusion parameters were not associated with the change in size of the mass and the survival of the dogs could be due to the small population of dogs, the fact that all brain masses were considered as a single group when assessing the statistical relationship between these parameters, but also because of the variability of clinical signs associated with brain masses, leading to humane euthanasia regardless of response to treatment or aggressivity of the tumor. A study in a much larger population would be needed to further assess the potential prognostic role of DCECT perfusion parameters in brain tumors.

Heavier dogs had shorter survival in this study, regardless of tumor location. There is no clear reason to explain this finding, but it could simply be that heavier dogs with severe neurological clinical signs would be less manageable by their owners, therefore euthanized earlier in the course of the disease. Alternately, it could also represent a bias due to the small number of dogs included.

This study has many limitations. The main one is the small number of dogs, limiting the statistical power. A second limitation is the absence of confirmation and characterization of the masses. Using only the imaging characteristics, it is often impossible to differentiate between meningioma and histiocytic sarcoma, between pituitary adenoma and carcinoma, and between types and grades of gliomas (31, 40, 41). Unfortunately, brain biopsy requires specific equipment and experience and is not routinely performed in veterinary medicine, and a post-mortem examination is often declined by the owners. The accuracy of MRI has been reported to be as high as 100% in predicting the presence of a brain tumor (40), and 70 to 96% accurate in predicting the correct tumor type (42, 43). However, several studies in the veterinary literature report that other types of lesions such as cerebral vascular accidents can be misdiagnosed as gliomas on MRI (44, 45). Therefore, the diagnosis of brain tumor remains presumptive in this study.

Some dogs received anti-inflammatory drugs before first or repeat DCECT, or before both; other did not. The effects of anti-inflammatory drugs on DCECT perfusion parameters have not been studied, yet their anti-COX-2 activity have an anti-angiogenic action and could be responsible for changes in the perfusion parameters (46).

The technique of DCECT images acquisition and analysis used in this study also has some inherent limitations. The DCECT protocol used meets the human recommendations except for the injection rates of contrast medium and saline flush. Indeed, due to catheter size limitations leading to overpressure during injection, a 5 ml/s injection rate was not feasible. However, the smaller size of dogs compared to human beings likely balances out this limitation. Finally, intra and inter-observer variability have not been calculated in this study but would have been interesting, especially since it represents the highest contributor to overall variability in DCECT (47). A study found a coefficient of variation within patient ranging from 22 to 30% due to variability of the arterial input function area under the curve and variability in the tumor area under the curve in dogs with nasal tumors, using the same perfusion analysis software as the one used in this study (27). On the other hand, patients' blood pressure was not found to have a significant impact on the perfusion analysis.

Contouring of masses close to the calvarium obliged to exclude a sliver of tissue to avoid including bone in the perfusion analysis. Another important technical limitation is the fact that in two dogs with an intra-axial mass, contouring was performed where the observer subjectively thought the mass was based on MRI studies, and therefore might have been inaccurate.

In conclusion, this study found an association between the location of intracranial masses and the perfusion parameters at baseline (extra-axial masses have higher BF and BV than intra-axial and pituitary masses) and during RT (with extra-axial tumors showing

a higher decrease in BF and BV than pituitary and intra-axial tumors), and between the location of the mass and the size reduction during RT (with intra-axial tumors showing a higher decrease in size than extra-axial and pituitary tumors). Functional imaging, including DCECT, is of increasing availability in veterinary medicine yet still poorly studied. Further research in this field might be extremely valuable, with potential to help refine the diagnosis and prognosis, guide the choice of treatment, assess the treatment response, and detect recurrence in dogs with brain tumors.

## Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

## Ethics statement

The animal study was reviewed and approved by Research Ethics at the Institute of Veterinary Science of the University of Liverpool (VREC560a). Written informed consent was obtained from the owners for the participation of their animals in this study.

## Author contributions

JM, TM, VB, LB, and ML: conception and design. JM and LB: acquisition of data. JM and TM: analysis and interpretation of data.

## References

- Foster ES, Carrillo JM, Patnaik AK. Clinical signs of tumors affecting the rostral cerebrum in 43 dogs. *J Vet Intern Med.* (1988) 2:71–4. doi: 10.1111/j.1939-1676.1988.tb02796.x
- Kent MS, Bommarito D, Feldman E, Theon AP. Survival, neurologic response, and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *J Vet Intern Med.* (2007) 21:1027–33. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb03060.x
- Berlato D, Zwingenberger AL, Ruiz-Drebing M, Pradel J, Clark N, Kent MS. Canine meningiomas treated with three-dimensional conformal radiation therapy require magnetic resonance imaging to avoid a geographic miss. *Vet Radiol Ultrasound.* (2018) 59:777–85. doi: 10.1111/vru.12653
- Dolera M, Malfassi L, Bianchi C, Carrara N, Finesso S, Marcarini S, et al. Frameless stereotactic radiotherapy alone and combined with temozolomide for presumed canine gliomas. *Vet Comp Oncol.* (2018) 16:90–101. doi: 10.1111/vco.12316
- Kelsey KL, Gieger TL, Nolan MW. Single fraction stereotactic radiation therapy (stereotactic radiosurgery) is a feasible method for treating intracranial meningiomas in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* (2018) 59:632–8. doi: 10.1111/vru.12636
- Hansen KS, Zwingenberger AL, Théon AP, Kent MS. Long-term survival with stereotactic radiotherapy for imaging-diagnosed pituitary tumors in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* (2019) 60:219–32. doi: 10.1111/vru.12708
- Debreuque M, de Fornel P, David I, Delisle F, Ducerveau MN, Devauchelle P, et al. Definitive-intent uniform megavoltage fractionated radiotherapy protocol for presumed canine intracranial gliomas: retrospective analysis of survival and prognostic factors in 38 cases (2013–2019). *BMC Vet Res.* (2020) 16:412. doi: 10.1186/s12917-020-02614-x
- Moirano SJ, Dewey CW, Haney S, Yang J. Efficacy of frameless stereotactic radiotherapy for the treatment of presumptive canine intracranial gliomas: a retrospective analysis (2014–2017). *Vet Comp Oncol.* (2020) 18:528–37. doi: 10.1111/vco.12573
- Monforte Monteiro SR, Rossmel JH, Russell J, Holmes MA, Wessmann A, Morris J, et al. Effect of radiotherapy on freedom from seizures in dogs with brain tumors. *J Vet Intern Med.* (2020) 34:821–7. doi: 10.1111/jvim.15695
- Van Asselt N, Christensen N, Meier V, Rohrer Bley C, Laliberte S, Poirier VJ, et al. Definitive-intent intensity-modulated radiation therapy provides similar outcomes to those previously published for definitive-intent three-dimensional conformal radiation

therapy in dogs with primary brain tumors: a multi-institutional retrospective study. *J Radiol Ultrasound.* (2020) 61:481–9. doi: 10.1111/vru.12868

## Funding

The authors received a research grant from the University of Liège for this work (FSR 2018).

## Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

therapy in dogs with primary brain tumors: a multi-institutional retrospective study. *J Radiol Ultrasound.* (2020) 61:481–9. doi: 10.1111/vru.12868

11. Carter GL, Ogilvie GK, Mohammadian LA, Bergman PJ, Lee RP, Proulx DR. CyberKnife stereotactic radiotherapy for treatment of primary intracranial tumors in dogs. *J Vet Intern Med.* (2021) 35:1480–6. doi: 10.1111/jvim.16086

12. Axlund TW, McGlasson ML, Smith AN. Surgery alone or in combination with radiation therapy for treatment of intracranial meningiomas in dogs: 31 cases (1989–2002). *J Am Vet Med Assoc.* (2002) 221:1597–600. doi: 10.2460/javma.2002.221.1597

13. Keyerleber MA, McEntee MC, Farrelly J, Thompson MS, Scrivani PV, Dewey CW. Three-dimensional conformal radiation therapy alone or in combination with surgery for treatment of canine intracranial meningiomas. *Vet Comp Oncol.* (2015) 13:385–97. doi: 10.1111/vco.12054

14. Hara Y. Transsphenoidal surgery in canines: safety, efficacy and patient selection. *Vet Med.* (2020) 11:1–14. doi: 10.2147/vmrr.s175995

15. Hu H, Barker A, Harcourt-Brown T, Jeffery N. Systematic review of brain tumor treatment in dogs. *J Vet Intern Med.* (2015) 29:1456–63. doi: 10.1111/jvim.13617

16. Brearley MJ, Jeffery ND, Phillips SM, Dennis R. Hypofractionated radiation therapy of brain masses in dogs: a retrospective analysis of survival of 83 cases (1991–1996). *J Vet Intern Med.* (1999) 13:408–12. doi: 10.1111/j.1939-1676.1999.tb01454.x

17. Griffin LR, Nolan MW, Selmic LE, Randall E, Custis J, LaRue S. Stereotactic radiation therapy for treatment of canine intracranial meningiomas. *Vet Comp Oncol.* (2016) 14:e158–70. doi: 10.1111/vco.12129

18. van Rijn SJ, Galac S, Tryfonidou MA, et al. The influence of pituitary size on outcome after transsphenoidal hypophysectomy in a large cohort of dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *J Vet Intern Med.* (2016) 30:989–95. doi: 10.1111/jvim.14367

19. José-López R, Gutierrez-Quintana R, Fuente C, Manzanilla EG, Suñol A, Pi Castro D, et al. Clinical features, diagnosis, and survival analysis of dogs with glioma. *J Vet Intern Med.* (2021) 35:1902–17. doi: 10.1111/jvim.16199

20. Garcia Mora JK, Robertson J, Hsu F, et al. Comparison of linear and volumetric criteria for the determination of therapeutic response in dogs with intracranial gliomas. *J Vet Intern Med.* (2022) 36:1066–74. doi: 10.1111/jvim.16406

21. Kimura M, da Cruz LCH. Multiparametric MR imaging in the assessment of brain tumors. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* (2016) 24:87–122. doi: 10.1016/j.mric.2015.09.001
22. TPC Y, Bauman G, Yartsev S, Fainardi E, Mac Donald D, Lee TY. Dynamic perfusion CT in brain tumors. *Eur J Radiol.* (2015) 84:2386–92. doi: 10.1016/j.ejrad.2015.02.012
23. Shankar JJS, Woulfe J, da Silva V, Nguyen TB. Evaluation of perfusion CT in grading and prognostication of high-grade gliomas at diagnosis: a pilot study. *Am J Roentgenol.* (2013) 200:W504–9. doi: 10.2214/AJR.12.8967
24. Yeung TPC, Wang Y, He W, et al. Survival prediction in high-grade gliomas using CT perfusion imaging. *J Neuro-Oncol.* (2015) 123:93–102. doi: 10.1007/s11060-015-1766-5
25. MacLeod AG, Dickinson PJ, LeCouteur RA, Higgins RJ, Pollard RE. Quantitative assessment of blood volume and permeability in cerebral mass lesions using dynamic contrast-enhanced computed tomography in the dog. *Acad Radiol.* (2009) 16:1187–95. doi: 10.1016/j.acra.2009.03.015
26. Zwingenberger AL, Pollard RE, Taylor SL, Chen RX, Nunley J, Kent MS. Perfusion and volume response of canine brain tumors to stereotactic radiosurgery and radiotherapy. *J Vet Intern Med.* (2016) 30:827–35. doi: 10.1111/jvim.13945
27. la Fontaine MD, McDaniel LS, Kubicek LN, Chappell RJ, Forrest LJ, Jeraj R. Patient characteristics influencing the variability of distributed parameter-based models in DCE-CT kinetic analysis. *Vet Comp Oncol.* (2017) 15:105–17. doi: 10.1111/vco.12143
28. Treggiari E, Maddox TW, Gonçalves R, Benoit J, Buchholz J, Blackwood L. Retrospective comparison of three-dimensional conformal radiation therapy vs. prednisolone alone in 30 cases of canine Infratentorial brain tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* (2017) 58:106–16. doi: 10.1111/vru.12440
29. Hakyemez B, Yildirim N, Erdoğan C, Kocaeli H, Korfali E, Parlak M. Meningiomas with conventional MRI findings resembling intraaxial tumors: can perfusion-weighted MRI be helpful in differentiation? *Neuroradiology.* (2006) 48:695–702. doi: 10.1007/s00234-006-0115-y
30. Kremer S, Grand S, Remy C, Esteve F, Lefournier V, Pasquier B, et al. Cerebral blood volume mapping by MR imaging in the initial evaluation of brain tumors. *J Neuroradiol.* (2002) 29:105–13.
31. Pollard RE, Reilly CM, Uerling MR, Wood FD, Feldman EC. Cross-sectional imaging characteristics of pituitary adenomas, invasive adenomas and adenocarcinomas in dogs: 33 cases (1988–2006). *J Vet Intern Med.* (2010) 24:160–5. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0414.x
32. Bashari WA, Senanayake R, Fernández-Pombo A, Gillett D, Koulouri O, Powlson AS, et al. Modern imaging of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* (2019) 33:101278. doi: 10.1016/j.beem.2019.05.002
33. Baskar R, Dai J, Wenlong N, Yeo R, Yeoh KW. Biological response of cancer cells to radiation treatment. *Front Mol Biosci.* (2014) 1. doi: 10.3389/fmolb.2014.00024
34. Hirata E, Sahai E. Tumor microenvironment and differential responses to therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* (2017) 7:1, 24–14. doi: 10.1101/cshperspect.a026781
35. Beppu T, Sasaki M, Kudo K, Kurose A, Takeda M, Kashimura H, et al. Prediction of malignancy grading using computed tomography perfusion imaging in nonenhancing supratentorial gliomas. *J Neuro-Oncol.* (2011) 103:619–27. doi: 10.1007/s11060-010-0433-0
36. Maarouf R, Sakr H. A potential role of CT perfusion parameters in grading of brain gliomas. *Egypt J Radiol Nucl Med.* (2015) 46:1119–28. doi: 10.1016/j.ejnm.2015.07.002
37. Ahmad N, Shaikat A, Rehan A, Rashid S. Diagnostic accuracy of perfusion computed tomography in cerebral glioma grading. *J Coll Physicians Surg Pak.* (2016) 26:562–5.
38. Jain R, Narang J, Griffith B, Bagher-Ebadian H, Scarpace L, Mikkelsen T, et al. Prognostic vascular imaging biomarkers in high-grade gliomas. Tumor permeability as an adjunct to blood volume estimates. *Acad Radiol.* (2013) 20:478–85. doi: 10.1016/j.acra.2012.11.011
39. Satheesh Kumar E, Ramesh D, Kailasanathan N. The role of CT perfusion parameters in grading of brain gliomas in correlation with histopathology. *Int J Contemp Med Res.* (2017) 4:540–4.
40. Bentley RT, Ober CP, Anderson KL, Feeney DA, Naughton JF, Ohlstedt JR, et al. Canine intracranial gliomas: relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. *Vet J.* (2013) 198:463–71. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.08.015
41. Wada M, Hasegawa D, Hamamoto Y, Yu Y, Fujiwara-Igarashi A, Fujita M. Comparisons among MRI signs, apparent diffusion coefficient, and fractional anisotropy in dogs with a solitary intracranial meningioma or histiocytic sarcoma. *Vet Radiol Ultrasound.* (2017) 58:422–32. doi: 10.1111/vru.12497
42. Ródenas S, Pumarola M, Gaitero L, Zamora À, Añor S. Magnetic resonance imaging findings in 40 dogs with histologically confirmed intracranial tumours. *Vet J.* (2011) 187:85–91. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.10.011
43. Thomas WB, Wheeler SJ, Kramer R, Kornegay JN. Magnetic resonance imaging features of primary brain tumors in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* (1996) 37:20–7. doi: 10.1111/j.1740-8261.1996.tb00807.x
44. Cervera V, Mai W, Vite CH, Johnson V, Dayrell-Hart B, Seiler GS. Comparative magnetic resonance imaging findings between gliomas and presumed cerebrovascular accidents in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* (2010) 52:33–40. doi: 10.1111/j.1740-8261.2010.01749.x
45. Young BD, Fosgate GT, Holmes SP, Wolff CA, Chen-Allen AV, Kent M, et al. Evaluation of standard magnetic resonance characteristics used to differentiate neoplastic, inflammatory, and vascular brain lesions in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* (2014) 55:399–406. doi: 10.1111/vru.12137
46. Mander K, Finnie J. Tumour angiogenesis, anti-angiogenic therapy and chemotherapeutic resistance. *Aust Vet J.* (2018) 96:371–8. doi: 10.1111/avj.12747
47. Ng CS, Wei W, Ghosh P, Anderson E, Herron DH, Chandler AG. Observer variability in CT perfusion parameters in primary and metastatic tumors in the lung. *Technol Cancer Res Treat.* (2018) 17:1–9. doi: 10.1177/1533034618769767

# ———— Section expérimentale

## Étude 3 :

Résultats de scanner de perfusion chez 13 chiens atteints de  
tumeurs oro-faciales

---

## **Résumé**

*Le traitement des tumeurs oro-faciales chez le chien est associé à une morbidité élevée et il n'existe pas de facteurs pronostiques fiables. Le scanner de perfusion (DCECT) peut être utilisé pour évaluer la perfusion tumorale. Les objectifs de cette étude étaient de décrire les valeurs des paramètres de perfusion de différents types de tumeurs oro-faciales et de décrire les modifications de ces paramètres au cours de la radiothérapie (RT). Onze chiens atteints de tumeurs oro-faciales ont été recrutés de manière prospective.*

*Tous les chiens ont reçu un DCECT initial afin d'évaluer le volume sanguin (BV), le débit sanguin (BF) et le temps de transit (TT). Cinq chiens ont reçu un DCECT de contrôle après 12 Gy de RT mégavoltage. Cinq carcinomes à cellules squameuses, 3 sarcomes, 1 mélanome, 1 sarcome histiocytaire et 1 améloblastome acanthomateux ont été inclus. Le BV et le BF des carcinomes à cellules squameuses étaient plus élevés que ceux des sarcomes, bien qu'aucune analyse statistique n'ait été effectuée pour confirmer ces résultats. Lors du DCECT de contrôle, 4 chiens ont montré une réduction de la taille de leur tumeur pendant la RT. Parmi ces tumeurs (2 carcinomes à cellules squameuses, 1 sarcome et 1 mélanome), 3 ont montré une augmentation du BV et du BF et 1 (le mélanome) une diminution de ces paramètres entre le DCECT initial et le DCECT de suivi. Le seul chien dont la taille de la tumeur (améloblastome acanthomateux) a augmenté entre le premier et le second DCECT a également présenté une diminution du BV et du BF tumoral. Les valeurs des paramètres de perfusion dérivés du DCECT ont été décrits chez une série de chiens présentant différents types de tumeurs oro-faciales. Les résultats suggèrent que les tumeurs épithéliales pourraient avoir des BV et BF plus élevés que les tumeurs mésenchymateuses, bien que des échantillons plus importants soient nécessaires pour étayer ces résultats préliminaires.*

---

# Section expérimentale

## Étude 3 :

Dynamic contrast-enhanced computed tomography in 11 dogs with  
orofacial tumors

---

*American Journal of Veterinary Research IV:1-7*

J. Mortier, T. Maddox, L. Blackwood, M.D. La Fontaine, V. Busoni

## ***Abstract***

*Treatment of orofacial tumors in dogs is associated with high morbidity and reliable prognostic factors are lacking. Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) can be used to assess tumor perfusion. The objectives of this study were to describe the perfusion parameters of different types of orofacial tumors and to describe the changes in perfusion parameters during radiotherapy (RT) in a subset of them. Eleven dogs with orofacial tumors prospectively recruited. All dogs had baseline DCECT to assess blood volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT). Five dogs had repeat DCECT during megavoltage RT. Five squamous cell carcinomas, 3 sarcomas, 1 melanoma, 1 histiocytic sarcoma, and 1 acanthomatous ameloblastoma were included. Blood volume and BF were higher in squamous cell carcinomas than in sarcomas, although no statistical analysis was performed. At repeat DCECT, 4 dogs showed a reduction in the size of their tumor during RT. Among these dogs, 3 showed an increase in BV and BF and 1 a decrease in these parameters between the baseline and the follow-up DCECT. The only dog whose tumor increased in size between the first and the second DCECT showed a decrease in BV and BF. Perfusion parameters derived from DCECT were described in a series of dogs with various types of orofacial tumors. The results suggest that epithelial tumors could have higher BV and BF than mesenchymal tumors, although larger sample sizes are needed to support these preliminary findings.*

# Dynamic contrast-enhanced computed tomography in 11 dogs with orofacial tumors

Jeremy R. Mortier, DVM, DipECVDI<sup>1,3\*</sup>; Thomas W. Maddox, BVSc, PhD, DipECVDI<sup>1</sup>;  
Laura Blackwood, BVMS, MVM, PhD, DipECVIM-CA<sup>1</sup>; Matthew D. La Fontaine, PhD<sup>2</sup>; Valeria Busoni, DVM, PhD, DipECVDI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Small Animal Teaching Hospital, Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Neston, United Kingdom

<sup>2</sup>The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, the Netherlands

<sup>3</sup>Diagnostic Imaging Section, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège

\*Corresponding author: Dr. Mortier (jeremy.mortier@vet-alfort.fr)

Received December 14, 2022

Accepted March 1, 2023

doi.org/10.2460/ajvr.22.12.0207

## OBJECTIVE

Treatment of orofacial tumors in dogs is associated with high morbidity and reliable prognostic factors are lacking. Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) can be used to assess tumor perfusion. The objectives of this study were to describe the perfusion parameters of different types of orofacial tumors and to describe the changes in perfusion parameters during radiotherapy (RT) in a subset of them.

## ANIMALS

11 dogs with orofacial tumors prospectively recruited.

## CLINICAL PRESENTATION AND PROCEDURES

All dogs had baseline DCECT to assess blood volume (BV), blood flow (BF), and transit time (TT). Five dogs had repeat DCECT during megavoltage RT.

## RESULTS

5 squamous cell carcinomas, 3 sarcomas, 1 melanoma, 1 histiocytic sarcoma, and 1 acanthomatous ameloblastoma were included. Blood volume and BF were higher in squamous cell carcinomas than in sarcomas, although no statistical analysis was performed. At repeat DCECT, 4 dogs showed a reduction in the size of their tumor during RT. Among these dogs, 3 showed an increase in BV and BF and 1 a decrease in these parameters between the baseline and the follow-up DCECT. The only dog whose tumor increased in size between the first and the second DCECT showed a decrease in BV and BF.

## CLINICAL RELEVANCE

Perfusion parameters derived from DCECT were described in a series of dogs with various types of orofacial tumors. The results suggest that epithelial tumors could have higher BV and BF than mesenchymal tumors, although larger sample sizes are needed to support these preliminary findings.

Orofacial tumors are frequent in dogs. The most common malignant types are malignant melanoma, squamous cell carcinoma, and sarcoma (fibrosarcoma, less frequently osteosarcoma), whereas the most common benign oral tumors are odontogenic tumors, especially acanthomatous ameloblastoma.<sup>1-3</sup> The treatment of choice for maxillary and mandibular tumors is excisional surgery, alone or with adjuvant radiotherapy (RT) and chemotherapy or other medical therapy depending on the type of tumor.<sup>4-11</sup> However, facial surgery is associated with significant morbidity and esthetic consequences that might discourage owners,<sup>2</sup> and RT alone (or in association with chemotherapy) is sometimes preferred. Apart

from the treatment type, several other prognostic factors for oral tumors have been described in the veterinary literature, including the type, size, stage, and location of the tumor, histological grade, margins after surgical resection, proliferation, and other prognostic markers.<sup>7,8,12,13</sup> Surgery is the mainstay of treatment in most studies.

Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) is a functional imaging technique that allows the assessment of blood flow (BF) in the capillary network by continuous or intermittent scanning of a volume of tissue during intravenous (IV) administration of contrast medium.<sup>14-16</sup> In humans, correlations exist between DCECT-derived perfusion parameters

of solid tumors and hypoxia, and similarly between tumor hypoxia, malignant progression and treatment failure.<sup>17</sup> In humans with head and neck cancer, perfusion parameters derived from DCECT, particularly blood volume (BV) and BF, have shown promises as prognostic indicators, to assess response to treatment and to detect local recurrence.<sup>18-21</sup> Dynamic contrast-enhanced computed tomography has been previously described in dogs with cancer, but its potential value as a clinical tool remains unknown.<sup>22-29</sup>

The aims of this study were (1) to describe the perfusion parameters of various types of orofacial tumors in a small population of dogs and (2) to describe the changes in perfusion parameters during RT in a subset of them.

## Materials and Methods

### Experimental design

This is a prospective cross-sectional and longitudinal case series.

### Case selection

Client-owned dogs presented at the Small Animal Teaching Hospital (SATH) of the University of Liverpool with a diagnosis of orofacial tumor were prospectively enrolled from January 2017 to January 2020. Ethical approval was granted by the Committee on Research Ethics at the Institute of Veterinary Science of the University of Liverpool (VREC560a) and owner consent allowing for diagnostic tests including DCECT was obtained before inclusion into the study. To meet the inclusion criteria, a final diagnosis of the orofacial tumor had to be made by cytology and/or histology and dogs must have undergone at least a baseline DCECT. Dogs who had already received RT or chemotherapy were excluded. Dogs receiving other medical treatments for their tumor (anti-inflammatory and antimicrobial medication) were not excluded.

### Clinical data

Treatment received at the time of DCECT, heart rate and systolic blood pressure during DCECT, localization and histological type of the tumor, and treatment administered to treat the tumor were recorded. Histological types were subclassified as squamous cell carcinoma, sarcoma (unclassified sarcoma, fibrosarcoma), and other (1 melanoma, 1 acanthomatous ameloblastoma, and 1 histiocytic sarcoma) for baseline DCECT. Palliative medical treatment received for the tumor was NSAID, acetaminophen, and/or metronomic chemotherapy.

### Dynamic contrast-enhanced CT

All dogs were anesthetized. Premedication slightly varied depending on the attending anesthetist but most dogs received a combination of medetomidine (0.003 to 0.01 mg/Kg IV) and butorphanol (0.05 to 0.2 mg/Kg IV) or methadone (0.2 mg/Kg IV). One dog did not have an anesthetic record. Dogs were then induced using IV propofol or alfaxalone (to effect), intubated, and anesthesia was maintained

using sevoflurane. Dynamic contrast-enhanced computed tomography was performed using an 80-slice CT scan (Aquilion Prime 80; Canon Medical System) with dogs in sternal recumbency. Dogs for which owners elected for RT were immobilized using a thermoplastic mask and customized head support, secured to a plastic head frame with 4 points of fixation, as part of the standard RT planning.

Pre-contrast scan of the head was performed. Scanning parameters were 120 kV, variable mAs using Automatic Exposure Control, pitch factor 0.625, and images were reconstructed at 1 mm slice thickness using bone and soft tissue reconstruction algorithms. Dynamic contrast-enhanced computed tomography planning was done using the pre-contrast soft tissue reconstruction in a soft tissue window (window width: 200 HU, window level 40 HU). A 4-cm length field of view was chosen to include the entirety of the tumor or its center if the mass was longer than 4 cm in length.

A 60-second continuous scan starting with intravenous injection of 2 mL/Kg body weight of iodinated contrast medium (Ioversol 300 mg/mL iodine) using a power injector set at 3 mL/s injection rate (maximal allowable injection pressure set at 150 psi) and followed by a bolus flush of saline 1 mL/Kg at the same injection rate. Scanning parameters were 80 kV, 200 mA, 0.75 second rotation time, 0.5 mm scan slice thickness, 1 second time interval, and 2 mm reconstruction slice thickness. Images were reconstructed using a soft tissue reconstruction algorithm.

A post-contrast scan of the head was performed immediately after the perfusion CT (90 seconds after initiation of the intravenous injection of iodinated contrast medium), using the same scanning parameters as for the pre-contrast scan. Five dogs had a second DCECT using the same anesthetic protocol (all under general anesthesia) and the same scanning technique as described above, after receiving 12 Gy of radiation in dogs with definitive RT and 8 Gy in the dog with palliative RT.

### Radiation therapy

The 5 dogs who had repeat DCECT received RT using a linear accelerator (Clinac 2100 or VitalBeam; Varian Medical Systems). Definitive RT (4 dogs) was administered with 12 fractions of 4 Gy on a Monday, Wednesday, and Friday; palliative RT (1 dog) was administered as 4 fractions of 8 Gy on a once weekly basis. All treatments were carried out at 6 MV and were 3D planned from CT images using Pinnacle version 8/9 (Pinnacle, Phillips Radiation Oncology Systems, Phillips Healthcare) or Eclipse 15.1 (Varian Medical Systems), with intention to include at least 95% of the planning treatment volume (clinical target plus 0.5 cm) in the 95% to 105% isodose. Organs at risk were segmented. Plans utilized 3 or 4 coplanar beams, with beam collimation using multi-leaf collimator (MLC) beam modification and dynamic wedges where appropriate. Dogs were immobilized as described for the CT scans. Point-by-point calibration using portal imaging was carried out at least twice during the treatment protocol to verify position.

## Images and perfusion analysis

Conventional CT images of the head were reviewed by an ECVDI board-certified veterinary radiologist (J.M.) blinded to the clinical data of the dogs, using a Mac workstation and an image viewer (OsirixMD, Pixmeo). Images were viewed using both a soft tissue window (window width: 200 HU, window level: 40 HU) and a bone window (window width: 4500 HU and window level: 450 HU). Multiplanar reconstruction was performed for each dog. Length, width, and height with planes parallel and orthogonal to those of the head were measured and the volume of the mass (using the ellipsoid formula  $V = 4/3 \cdot \pi \cdot L \cdot W \cdot H$ ) was calculated. Masses were first classified as mandibular, maxillary, palatal, frontal, or incisive depending on the bone from where it originated.

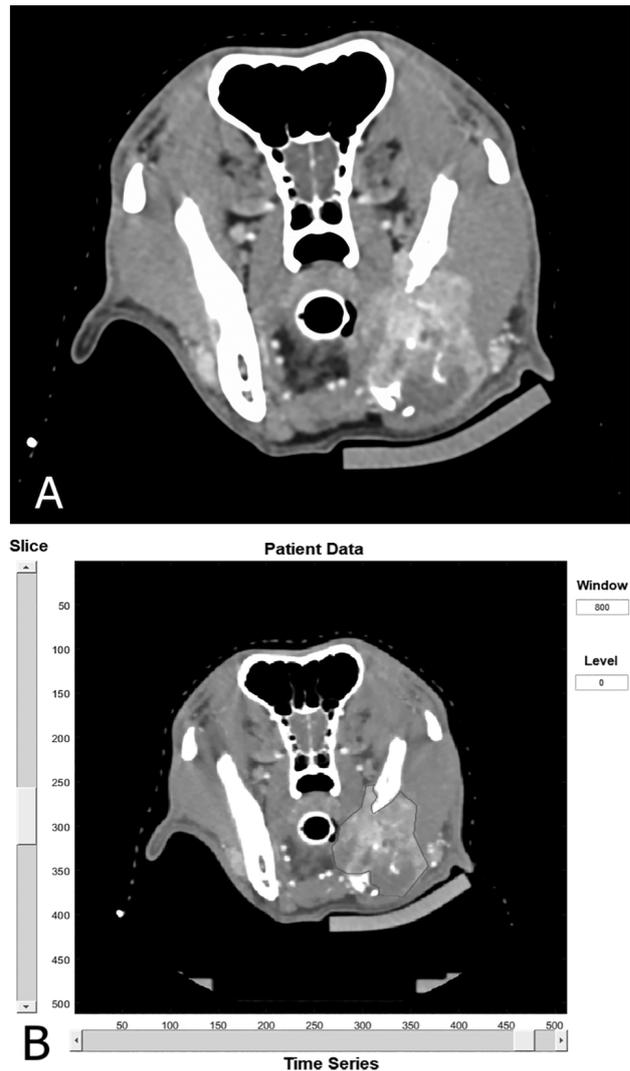
DCECT images were analyzed using an adiabatic approximation to the tissue homogeneity (ATH) model implemented with MATLAB, designed as part of a previous study.<sup>28</sup> An arterial input function was first contoured, and a time-attenuation curve was displayed to verify it had a shape consistent with arterial BF. The artery selected for the arterial input function was the lingual artery as it is the largest artery that was consistently included in the field of view and not surrounded by bone. To appropriately contour the artery without selecting peripheral lingual tissue the image was zoomed in and contoured on the arterial phase (with veins not contrast-enhanced). Only the center of the artery was included when possible. The tumor was then contoured manually slice-by-slice on every slice containing suspected tumoral tissue (**Figure 1**). Care was taken not to include bone or large vessels within the contouring. Therefore, when present, the small part of the mass in contact with these structures was excluded from contouring. Perfusion parameters obtained from the analysis were BF, vascular fraction, and transit time (TT). BV could then be calculated using the following formula:  $BV = TT \times BF$ . Perfusion analysis was performed by one trained operator (J.M.).

## Results

Eleven dogs met the inclusion criteria. All dogs had a baseline DCECT. Five dogs had a repeat DCECT 11 to 33 days (median 17 days) after the first DCECT. There were 2 intact females, 2 spayed females, 2 intact males, and 5 neutered males. Breeds were varied and included 2 Labrador retrievers, a cross breed, and 1 dog of several breeds (including Cocker Spaniel, Bernese Mountain dog, Cairn Terrier, Border Terrier, Jack Russel terrier, Pug, Bearded Collie, and Beagle). Median age of the dogs was 8.9 years old and median weight was 14.2 Kg.

There were 5 squamous cell carcinomas, 3 sarcomas (1 fibrosarcoma and 2 undifferentiated sarcomas), 1 melanoma, 1 acanthomatous ameloblastoma, and 1 histiocytic sarcoma.

In terms of location, there were 4 maxillary masses (1 histiocytic sarcoma, 1 melanoma, 1 squamous cell carcinoma, and 1 fibrosarcoma), 3 palatal



**Figure 1**—A computed tomographic image of the head of a dog with squamous cell carcinoma centered on the left mandible, in the transverse plane and soft tissue algorithm (A). The same image is displayed by the perfusion software, showing tumor contouring (B).

masses (2 undifferentiated sarcomas and 1 squamous cell carcinoma), 2 mandibular masses (both squamous cell carcinoma), 1 frontal mass (squamous cell carcinoma), and 1 incisive mass (acanthomatous ameloblastoma).

Five dogs were receiving meloxicam (0.1 to 0.2 mg/Kg PO q 24 hour) including 2 dogs with squamous cell carcinoma, the dog with histiocytic sarcoma, the dog with acanthomatous ameloblastoma, and the dog with melanoma. Six dogs had not received any treatment at the time of presentation.

Seven dogs had a record of their heart rate during the baseline DCECT at the time of injection of contrast medium. All heart rates were considered appropriate by the attending anesthetist and ranged from 60 to 130 bpm (median 70 bpm). Similarly, systolic blood pressure was obtained for 4 dogs and ranged from 100 to 130 mmHg (median 115 mmHg).

In the 5 dogs who had repeat DCECT, tumor types were: 2 squamous cell carcinomas, 1 melanoma, 1 sarcoma, and 1 acanthomatous ameloblastoma. At repeat DCECT the 1 dog with squamous cell carcinoma was receiving prednisolone (0.4 mg/Kg PO q 24 hour), 1 dog with melanoma was on robenacoxib (1 mg/Kg PO q 24 h) and 2 dog (1 with a squamous cell carcinoma, 1 with a sarcoma) were not receiving any medical treatment.

## Imaging Findings

### Baseline DCECT

Imaging and perfusion analysis results are detailed elsewhere (**Supplementary Appendix**). Median mass length, width, height, and volume were 3.2 cm (1–5.6), 2.3 cm (1.3–6.1), 2.5 cm (0.8–5.3), and 83.8 cm<sup>3</sup> (6.8–472.2), respectively. Median tumor volume was 12.9 cm<sup>3</sup> (12.7, 12.9, 320.8) in the sarcoma group and 31.8 cm<sup>3</sup> (6.8, 21.8, 31.8, 92.7, 426.3) in squamous cell carcinomas. Mass volume for the other tumor types were 472.2 cm<sup>3</sup> for the histiocytic sarcoma, 111 cm<sup>3</sup> for the melanoma, and 83.8 cm<sup>3</sup> for the acanthomatous ameloblastoma.

Median BV was 4.79 mL/100 g (2.5–18.1), median BF was 52.6 mL/100 g/min (22.4–261.7), and median TT was 5.1 seconds (3.8–6.93). Results for the different types of tumors are shown (**Table 1**).

### Repeat DCECT

Perfusion parameters before and during RT and the percent change in tumor volume are presented (**Table 2**). Four dogs showed a reduction in the size of their tumor during RT, with a mean decrease in size of 28.3 cm<sup>3</sup> (48%, 10–72%). Amongst these dogs, 3 showed an increase in BV and BF between the baseline and follow-up DCECT, and 1 a decrease in both (the dog who received palliative RT). The only dog whose tumor increased in size between the first and the second DCECT (45%) showed a decrease in BV and BF.

## Discussion

This study described the perfusion parameters of various types of orofacial tumors in dogs and although no inferential statistical analysis was performed due to the small sample size, these results suggest that epithelial tumors could have higher BV and BF than mesenchymal tumors. A previous study on 31 dogs with spontaneous canine tumors (15 carcinomas and 16 sarcomas of various origins and localizations) where the authors performed a semi-quantitative perfusion analysis showed that soft tissue sarcomas had significantly lower BF than carcinomas and bone sarcomas.<sup>25</sup> These results are also in keeping with studies in humans, where soft tissue sarcomas tend to have lower BV and BF than carcinomas.<sup>30,31</sup> Most epithelial tumors were squamous cell carcinomas in the current study, and this tumor type tends to have strong tumor-associated inflammation, which could partly explain their higher vascularization compared with sarcoma.<sup>32</sup>

With too few dogs undergoing repeat examination, it was not the aim of this study to correlate the baseline perfusion parameters and the changes in tumor size during RT, but it is noteworthy that the only tumor that showed an increase in size during RT also had the second highest BV and BF. Results of similar studies in human patients with head and neck cancer are inconsistent, yet most studies have found that high pre-treatment BF and BV were associated with a better response to treatment, locoregional control, or survival.<sup>20,33–38</sup> This could be explained by the fact that well vascularized and well oxygenated tumors are generally better responders to RT.<sup>39</sup>

In the current study, 3 out of 4 dogs who showed a reduction in size of the tumor during RT also showed an increased in BF and BV at 12 Gy. Functional imaging, including DCECT, has previously been done in 2 dogs with orofacial tumors at baseline and at 5 of the treatment sessions during intensity-modulated RT.<sup>23,26</sup> One dog showed an increase

**Table 1**—Baseline perfusion parameters and volume of orofacial tumors in 11 dogs.

Tumor types	Median (mean) blood volume (mL/100 g)	Median (mean) blood flow (mL/100 g/min)	Median (mean) transit time (s)	Median (mean) volume (cm <sup>3</sup> )
Squamous cell carcinomas (n = 5)	10 (7.7)	107.6 (93.4)	4.8 (5.2)	31.8 (45.1)
Sarcomas (n = 3)	2.8 (3.8)	32.3 (20.7)	5.9 (11.4)	12.9 (37.4)
Melanoma (n = 1)	4.2	49.8	5.1	111
Histiocytic sarcoma (n = 1)	2.8	42.2	5.1	472.2
Acanthomatous ameloblastoma (n = 1)	11.1	161.2	4.3	83.8

**Table 2**—Perfusion parameters before radiotherapy and after 12 Gy, and associated change in tumor volume in 5 dogs with orofacial tumors.

Tumor types	Before radiotherapy			After 12 Gy			Volume change (%)
	Blood volume (mL/100 g)	Blood flow (mL/100 g/min)	Transit time (s)	Blood volume	Blood flow	Transit time	
Squamous cell carcinoma	18.1	261.7	4.2	23.6	267.3	5.2	-72
Squamous cell carcinoma	4.8	52.6	5.8	5	54.4	5.5	-54
Sarcoma	7.7	104.1	4.5	8.7	211.8	2.5	-10
Melanoma	4.2	49.8	5.1	3.9	43.7	6	-56
Acanthomatous ameloblastoma	11.1	161.2	4.3	8.8	84.6	6.3	45

in contrast enhancement during RT, whereas the other one showed a decrease in contrast enhancement. Although these results are similar to those of the current study, their DCECT technique was based on semi-quantitative evaluation of tumor contrast enhancement, and changes in perfusion parameters and tumor volume did not seem well correlated. Studies in humans with head and neck tumors treated with RT showed that an initial increase in BV or BF during treatment followed by a decrease in these perfusion parameters was associated with better locoregional control.<sup>37,40,41</sup> One hypothesis to explain these results is an initial increase in tumor microvessels and vascular permeability, allowing a good response to RT, followed by occlusion or destruction of tumoral vessels in good responders.<sup>41</sup> Persistently low BF and BV after RT, also associated with good locoregional control, could demonstrate a lack of tumor repopulation. On the other hand, an early decrease in perfusion parameters during RT could illustrate the development of hypoxic areas that would decrease the sensitivity of the tumor to further RT sessions. However, current knowledge on tumor environment, its modification during treatment and the relationship with response to therapy is still scarce.

This study has important limitations. The main one is the small number of dogs, preventing inferential statistical analysis. However, the objective of this study was only descriptive.

The tumors included in this study were of various sizes, histological types, and locations, further adding important bias to the statistical analysis. As regards tumor size, large tumors can develop areas of hypoperfusion, necrosis, or cavitation that could have decreased their overall perfusion. However, correlation between tumor size and perfusion parameters has been inconsistent in human literature, as numerous interconnected environmental factors play a role in tumor perfusion, such as interstitial fluid pressure, growth rate, neoangiogenesis, and microvascular density, amongst others.<sup>42-44</sup>

Some dogs received inflammatory drugs before the first or the repeat DCECT, other did not. The effects of anti-inflammatory drugs on DCECT perfusion parameters have not been studied, yet their anti-COX-2 activity have an anti-angiogenic action and could be responsible for changes in the perfusion parameters.<sup>45</sup> Finally, the slight variation in anesthetic protocols and the difference in blood pressure and heart rate among dogs might also have had an impact on the perfusion parameters.

The DCECT protocol used in this study meets that recommendation for use in people but for the injection rates of contrast medium and saline flush. Indeed, due to catheter size limitations leading to overpressure during injection, a 5 mL/s injection rate was not feasible. However, the smaller size of dogs compared with human beings likely balances out this limitation. Finally, intra- and inter-observer variability have not been calculated in this study, but would have been interesting; especially because it likely represents the highest contributor to overall

variability in DCECT.<sup>46</sup> La Fontaine (2017) found a coefficient of variation within patients ranging from 22% to 30% due to variability of the arterial input function area under the curve and variability in the tumor area under the curve in dogs with nasal tumors, using the same perfusion analysis software as the one used in this study.<sup>28</sup>

In conclusion, the perfusion parameters derived from DCECT might be different in epithelial and mesenchymatous tumors of the head, with epithelial tumors having higher BV and BF than sarcomas in this small population. Three out of 4 dogs who showed a reduction in the volume of the tumor during RT also showed an increase in BV and BF at repeat DCECT, suggesting that there could be a relationship between changes in volume and in perfusion parameters in dogs with orofacial tumors, as it is the case in humans.

## Acknowledgments

Results from this study were presented at the EAVDI-BID meeting 2022 in Warwick, UK.

The authors received a research grant from the university of Liège for this work.

## References

1. Amory JT, Reetz JA, Sánchez MD, et al. Computed tomographic characteristics of odontogenic neoplasms in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2014;55:147-158. doi:10.1111/vru.12101
2. Cray M, Selmic LE, Kindra C, et al. Analysis of risk factors associated with complications following mandibulectomy and maxillectomy in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2021;259(3):265-274. doi:10.2460/javma.259.3.265
3. Lee S, Jang Y, Lee G, Jeon S, Kim D, Choi J. CT features of malignant and benign oral tumors in 28 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2021;62(5):549-556. doi:10.1111/vru.12996
4. Kawabe M, Mori T, Ito Y, et al. Outcomes of dogs undergoing radiotherapy for treatment of oral malignant melanoma: 111 cases (2006-2012). *J Am Vet Med Assoc*. 2015;247(10):1146-1153. doi:10.2460/javma.247.10.1146
5. Poirier VJ, Bley CR, Roos M, Kaser-hotz B. Efficacy of RT for the treatment of macroscopic canine oral STS. *In Vivo (Brooklyn)*. 2006;20(3):415-419.
6. Proulx DR, Ruslander DM, Dodge RK, et al. A retrospective analysis of 140 dogs with oral melanoma treated with external beam radiation. *Vet Radiol Ultrasound*. 2003;44(3):352-359. doi:10.1111/j.1740-8261.2003.tb00468.x
7. Sarowitz BN, Davis GJ, Kim S. Outcome and prognostic factors following curative-intent surgery for oral tumours in dogs: 234 cases (2004 to 2014). *J Small Anim Pract*. 2017;58(3):146-153. doi:10.1111/jsap.12624
8. Riggs J, Adams VJ, Hermer JV, Dobson JM, Murphy S, Ladlow JF. Outcomes following surgical excision or surgical excision combined with adjunctive, hypofractionated radiotherapy in dogs with oral squamous cell carcinoma or fibrosarcoma. *J Am Vet Med Assoc*. 2018;253(1):73-83. doi:10.2460/javma.253.1.73
9. Selmic LE, Lafferty MH, Kamstock DA, et al. Outcome and prognostic factors for osteosarcoma of the maxilla, mandible, or calvarium in dogs: 183 cases (1986-2012). *J Am Vet Med Assoc*. 2014;245(8):930-938. doi:10.2460/javma.245.8.930
10. Sharma S, Boston SE, Skinner OT, et al. Survival time of juvenile dogs with oral squamous cell carcinoma treated

- with surgery alone: a Veterinary Society of Surgical Oncology retrospective study. *Vet Surg.* 2021;50(4):740–747. doi:10.1111/vsu.13625
11. Coyle VJ, Rassnick KM, Borst LB, et al. Biological behaviour of canine mandibular osteosarcoma. A retrospective study of 50 cases (1999–2007). *Vet Comp Oncol.* 2015;13(2):89–97. doi:10.1111/vco.12020
  12. Tuohy JL, Selmic LE, Worley DR, Ehrhart NP, Withrow SJ. Outcome following curative-intent surgery for oral melanoma in dogs: 70 cases (1998–2011). *J Am Vet Med Assoc.* 2014;245(11):1266–1273. doi:10.2460/javma.245.11.1266
  13. Mestrinho LA, Faisca P, Peleteiro MC, Niza MMRE. PCNA and grade in 13 canine oral squamous cell carcinomas: association with prognosis. *Vet Comp Oncol.* 2017;15(1):18–24. doi:10.1111/vco.12134
  14. Miles KA, Lee TY, Goh V, et al. Current status and guidelines for the assessment of tumour vascular support with dynamic contrast-enhanced computed tomography. *Eur Radiol.* 2012;22(7):1430–1441. doi:10.1007/s00330-012-2379-4
  15. Cuenod CAA, Balvay D. Perfusion and vascular permeability: basic concepts and measurement in DCE-CT and DCE-MRI. *Diagn Interv Imaging.* 2013;94(12):1187–1204. doi:10.1016/j.diii.2013.10.010
  16. García-Figueiras R, Goh VJ, Padhani AR, et al. CT perfusion in oncologic imaging: a useful tool? *Am J of Roentgenol.* 2013;200(1):8–19. doi:10.2214/AJR.11.8476
  17. Vaupel P. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Semin Radiat Oncol.* 2004;14(3):198–206. doi:10.1016/j.semradonc.2004.04.008
  18. Razek AAKA, Tawfik AM, Elsorogy LGA, Soliman NY. Perfusion CT of head and neck cancer. *Eur J Radiol.* 2014;83(3):537–544. doi:10.1016/j.ejrad.2013.12.008
  19. Preda L, Calloni SF, Moscatelli MEM, Cossu Rocca M, Bellomi M. Role of CT perfusion in monitoring and prediction of response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Res Int.* 2014;2014:917150. doi:10.1155/2014/917150
  20. Petralia G, Preda L, Giugliano G, et al. Perfusion computed tomography for monitoring induction chemotherapy in patients with squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: correlation between changes in tumor perfusion and tumor volume. *J Comput Assist Tomogr.* 2009;33(4):552–559. doi:10.1097/RCT.0b013e31818d446e
  21. Troeltzsch D, Niehues SM, Fluegge T, et al. The diagnostic performance of perfusion CT in the detection of local tumor recurrence in head and neck cancer. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2020;76(2):171–177. doi:10.3233/CH-209209
  22. Camp S, Fisher P, Thrall DE. Dynamic CT measurement of contrast medium washin kinetics in canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 2000;41(5):403–408. doi:10.1111/j.1740-8261.2000.tb01861.x
  23. Malinen E, Rødal J, Knudtsen IS, Søvik Å, Skogmo HK. Spatiotemporal analysis of tumor uptake patterns in dynamic (18)FDG-PET and dynamic contrast enhanced CT. *Acta Oncol.* 2011;50(6):873–882. doi:10.3109/0284186X.2011.579161
  24. Hansen AE, Kristensen AT, Law I, McEvoy FJ, Kjær A, Engelholm SA. Multimodality functional imaging of spontaneous canine tumors using 64Cu-ATSM and 18FDG PET/CT and dynamic contrast enhanced perfusion CT. *Radiother Oncol.* 2012;102(3):424–428. doi:10.1016/j.radonc.2011.10.021
  25. Nitzl D, Ohlerth S, Mueller-Schwandt F, Angst A, Roos M, Kaser-Hotz B. Dynamic computed tomography to measure tissue perfusion in spontaneous canine tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009;50(4):347–352. doi:10.1111/j.1740-8261.2009.01548.x
  26. Rødal J, Rusten E, Søvik Å, Skogmo HK, Malinen E. Functional imaging to monitor vascular and metabolic response in canine head and neck tumors during fractionated radiotherapy. *Acta Oncol.* 2013;52(7):1293–1299. doi:10.3109/0284186X.2013.812800
  27. Zwingenberger AL, Pollard RE, Taylor SL, Chen RX, Nunley J, Kent MS. Perfusion and volume response of canine brain tumors to stereotactic radiosurgery and radiotherapy. *J Vet Intern Med.* 2016;30(3):827–835. doi:10.1111/jvim.13945
  28. la Fontaine MD, McDaniel LS, Kubicek LN, Chappell RJ, Forrest LJ, Jeraj R. Patient characteristics influencing the variability of distributed parameter-based models in DCE-CT kinetic analysis. *Vet Comp Oncol.* 2017;15(1):105–117. doi:10.1111/vco.12143
  29. Takagi S, Yamazaki H, Izumi Y, Hanazono K, Hoshino Y, Hosoya K. Assessment of tumor enhancement by contrast-enhanced CT in solid tumor-bearing dogs treated with toceranib phosphate. *Vet Radiol Ultrasound.* 2020;61(4):427–434. doi:10.1111/vru.12856
  30. Trojanowska A, Trojanowski P, Drop A, JargieHo T, Klatka J. Head and neck cancer: value of perfusion CT in depicting primary tumor spread. *Med Sci Monit.* 2012;18(2):CR112–118. doi:10.12659/MSM.882466
  31. Tian F, Hayano K, Kambadakone AR, Sahani DV. Response assessment to neoadjuvant therapy in soft tissue sarcomas: using CT texture analysis in comparison to tumor size, density, and perfusion. *Abdom Imaging.* 2015;40(6):1705–1712. doi:10.1007/s00261-014-0318-3
  32. Nemec A, Murphy B, Kass PH, Verstraete FJM. Histological subtypes of oral non-tonsillar squamous cell carcinoma in dogs. *J Comp Pathol.* 2012;147(2–3):111–120. doi:10.1016/j.jcpa.2011.11.198
  33. Hermans R, Meijerink M, van den Bogaert W, Rijnders A, Weltens C, Lambin P. Tumor perfusion rate determined noninvasively by dynamic computed tomography predicts outcome in head-and-neck cancer after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;57(5):1351–1356. doi:10.1016/S0360-3016(03)00764-8
  34. Zima A, Carlos R, Gandhi D, Case I, Teknos T, Mukherji SK. Can pretreatment CT perfusion predict response of advanced squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract treated with induction chemotherapy? *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007;28(2):328–334.
  35. Bisdas S, Nguyen SA, Anand SK, Glavina G, Day T, Rumboldt Z. Outcome prediction after surgery and chemoradiation of squamous cell carcinoma in the oral cavity, oropharynx, and hypopharynx: use of baseline perfusion CT microcirculatory parameters vs. tumor volume. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;73(5):1313–1318. doi:10.1016/j.ijrobp.2008.06.1956
  36. Bisdas S, Rumboldt Z, Surlan-Popovic K, et al. Perfusion CT in squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: long-term predictive value of baseline perfusion CT measurements. *Am J Neuroradiol.* 2010;31(3):576–581. doi:10.3174/ajnr.A1852
  37. Truong MT, Saito N, Ozonoff A, et al. Prediction of locoregional control in head and neck squamous cell carcinoma with serial CT perfusion during radiotherapy. *Am J Neuroradiol.* 2011;32(7):1195–1201. doi:10.3174/ajnr.A2501
  38. Pietsch C, de Galiza Barbosa F, Hüllner MW, et al. Combined PET/CT-perfusion in patients with head and neck cancers might predict failure after radio-chemotherapy: a proof of concept study. *BMC Med Imaging.* 2015;15(1):1–9. doi:10.1186/s12880-015-0102-z
  39. Brizel DM, Sibley GS, Prosnitz LR, Scher RL, Dewhurst MW. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997;38(2):285–289. doi:10.1016/S0360-3016(97)00101-6
  40. Surlan-Popovic K, Bisdas S, Rumboldt Z, Koh TS, Strojjan P. Changes in perfusion CT of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck treated during the course of concomitant chemoradiotherapy. *Am J Neuroradiol.* 2010;31(3):570–575. doi:10.3174/ajnr.A1859
  41. Abramjuk A, Hietschold V, Appold S, von Kummer R, Abolmaali N. Radiochemotherapy-induced changes of tumour vascularity and blood supply estimated

- by dynamic contrast-enhanced CT and fractal analysis in malignant head and neck tumours. *Br J Radiol.* 2015;88(1045). doi:10.1259/bjr.20140412
42. Haider MA, Milosevic M, Fyles A, et al. Assessment of the tumor microenvironment in cervix cancer using dynamic contrast enhanced CT, interstitial fluid pressure and oxygen measurements. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;62:1100–1107. doi:10.1016/j.ijrobp.2004.12.064
  43. Aoki M, Takai Y, Narita Y, et al. Correlation between tumor size and blood volume in lung tumors: a prospective study on dual-energy gemstone spectral CT imaging. *J Radiat Res.* 2014;55:917–923. doi:10.1093/jrr/rru026
  44. Chen C, Kang Q, Wei Q, et al. Correlation between CT perfusion parameters and Fuhrman grade in pT1b renal cell carcinoma. *Abdom Radiol.* 2017;42:1464–1471. doi:10.1007/s00261-016-1009-z
  45. Mander K, Finnie J. Tumour angiogenesis, anti-angiogenic therapy and chemotherapeutic resistance. *Aust Vet J.* 2018;96:371–378. doi:10.1111/avj.12747
  46. Ng CS, Wei W, Ghosh P, Anderson E, Herron DH, Chandler AG. Observer variability in CT perfusion parameters in primary and metastatic tumors in the lung. *Technol Cancer Res Treat.* 2018;17:1–9. doi:10.1177/1533034618769767

## Supplementary Materials

Supplementary materials are posted online at the journal website: [avmajournals.avma.org](http://avmajournals.avma.org).

# ———— Section expérimentale

## Étude 4 :

Évaluation et corrélation des paramètres du scanner de perfusion et de la densité microvasculaire en tant qu'indicateurs pronostiques chez les chiens atteints de tumeurs de la tête

---

## **Résumé**

*Les tumeurs non résecables de la tête représentent un défi thérapeutique chez le chien, et des indicateurs de pronostic et des marqueurs de réponse au traitement sont nécessaires. Le micro-environnement tumoral, en particulier la densité microvasculaire (DMV), affecte la réponse au traitement et le pronostic. Les valeurs des paramètres de perfusion obtenus par scanner de perfusion (DCECT) ont été corrélés à la DMV et à la réponse au traitement en oncologie humaine. Vingt-cinq chiens présentant 16 tumeurs épithéliales et 9 tumeurs mésenchymateuses de la tête ont été recrutés de manière prospective. Tous ont subi un DCECT initial et 12 ont subi un DCECT de contrôle après 12 Gy de radiothérapie mégavoltage. La DMV (anti-facteur VIII) a été évaluée à l'aide d'un classificateur d'objets entraîné, au sein du stroma tumoral et du tissu tumoral.*

*Les tumeurs mésenchymateuses avaient un volume sanguin (BV) ( $P=.008$ ) et un débit sanguin (BF) ( $P=.003$ ) significativement plus faibles que les tumeurs épithéliales. Les tumeurs mésenchymateuses présentaient un pourcentage de vaisseaux sanguins au sein du tissu tumoral significativement plus élevé que les tumeurs épithéliales ( $P=0,04$ ). Il n'y avait pas d'association significative entre les valeurs des paramètres de perfusion et les mesures de la DMV. Le temps de transit du DCECT initial était positivement corrélé au temps de survie. Les valeurs des autres paramètres de perfusion, les modifications des paramètres de perfusion entre le DCECT initial et le DCECT de contrôle, et la DMV n'étaient pas associés au temps de de survie. Ces résultats suggèrent que les paramètres de perfusion dérivés du DCECT pourraient être utiles pour affiner le pronostic chez les chiens atteints de tumeurs de la tête.*

---

# Section expérimentale

## Étude 4 :

Perfusion parameters from dynamic contrast-enhanced computed tomography and microvascular density as prognostic indicators in dogs with tumors of the head

---

*Soumise*

J. Mortier, P. Richard-Rios, L. Ressel, V. Busoni

## ***Abstract***

*Non-resectable tumors of the head represent a therapeutic challenge in dogs and prognostic indicators and markers of response to treatment are needed. Tumor microenvironment, in particular microvascular density (MVD), affects response to treatment and prognosis. Perfusion parameters obtained from dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) have been correlated to MVD and outcome in humans. Twenty-five dogs comprising 16 epithelial tumors and 9 mesenchymal tumors of the head were prospectively recruited. All underwent baseline DCECT and 12 had repeat DCECT after 12 Gy of radiotherapy. Microvascular density (anti-Factor VIII) was assessed using a trained object classifier in stroma and tumor tissue. Mesenchymal tumors had a significantly lower blood volume (BV) ( $P=.008$ ) and blood flow (BF) ( $P=.003$ ) than epithelial tumors. Mesenchymal tumors had significantly higher percentage area of blood vessels in tumor tissue than epithelial tumors ( $P=.04$ ). There was no significant association between perfusion parameters and MVD measurements. Baseline transit time was positively correlated with survival. Other perfusion parameters, changes in perfusion parameters between baseline and repeat DCECT, and MVD were not associated with survival. These findings suggest that perfusion parameters derived from DCECT might be helpful to refine the prognosis in dogs with tumors of the head.*

## **Assessment of perfusion parameters from dynamic contrast-enhanced computed tomography and microvascular density as prognostic indicators in dogs with tumors of the head**

Running title: Perfusion CT and MVD in canine head tumors

Jeremy R Mortier<sup>1,4</sup>, Peter Richards-Rios<sup>2</sup>, Lorenzo Ressel<sup>2</sup>, Valeria Busoni<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Small Animal Teaching Hospital, Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Neston, UK

<sup>2</sup>Department of veterinary anatomy, physiology and pathology, Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Neston, UK

<sup>4</sup>Diagnostic Imaging section, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Liège, Belgium

Corresponding author: Jeremy Mortier. Email address: [jeremy.mortier@vet-alfort.fr](mailto:jeremy.mortier@vet-alfort.fr). Current work address: Service d'imagerie médicale (ChuvAC), École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94700 Maisons-Alfort.

Funding: The authors received a research grant from the university of Liège for this work (FSR 2018).

**Abstract**

Non-resectable tumors of the head represent a therapeutic challenge in dogs and prognostic indicators and markers of response to treatment are needed. Tumor microenvironment, in particular microvascular density (MVD), affects response to treatment and prognosis. Perfusion parameters obtained from dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) have been correlated to MVD and outcome in humans. Twenty-five dogs comprising 16 epithelial tumors and 9 mesenchymal tumors of the head were prospectively recruited. All underwent baseline DCECT and 12 had repeat DCECT after 12 Gy of radiotherapy. Microvascular density (anti-Factor VIII) was assessed using a trained object classifier in stroma and tumor tissue.

Mesenchymal tumors had a significantly lower blood volume (BV) ( $P=.008$ ) and blood flow (BF) ( $P=.003$ ) than epithelial tumors. Mesenchymal tumors had significantly higher percentage area of blood vessels in tumor tissue than epithelial tumors ( $P=.04$ ). There was no significant association between perfusion parameters and MVD measurements. Baseline transit time was positively correlated with survival. Other perfusion parameters, changes in perfusion parameters between baseline and repeat DCECT, and MVD were not associated with survival. These findings suggest that perfusion parameters derived from DCECT might be helpful to refine the prognosis in dogs with tumors of the head.

Keywords: DCECT, perfusion, microvascular density, dogs, neoplasms, head, survival analysis

## Introduction

Tumors originating from the nasal cavities and from the bones and soft tissues of the face in dogs often represent a therapeutic challenge due to their poor surgical resectability and the morbidity associated with surgery.<sup>1,2</sup>

There is increasing evidence that tumor microenvironment, and in particular the microvascular density (MVD), has important influence on the prognosis of various tumor types, both in humans and animals.<sup>3-9</sup> Epithelial and mesenchymal tumors have different microenvironments that could have an impact on response to treatment and could explain why canine nasal carcinomas show a greater decrease in size after radiotherapy (RT) than canine nasal sarcomas, even though survival times were not significantly different between tumor types.<sup>10,11</sup>

Dynamic contrast-enhanced computed tomography (DCECT) is a non-invasive technique measuring perfusion parameters of a chosen area through temporal changes in attenuation after intravenous injection of iodinated contrast medium.<sup>12</sup> These parameters classically include blood volume (BV), blood flow (BF) and transit time (TT). In previous studies, DCECT has shown promise as a prognostic indicator and is used to assess response to treatment and to detect local recurrence.<sup>13-16</sup> It was also shown that canine sarcomas had lower perfusion parameters than canine carcinomas.<sup>17</sup>

Several studies on various types of tumors including head and neck squamous cell carcinoma, prostatic neoplasia, pancreatic endocrine tumors and pancreatic carcinoma, have shown positive correlations between the perfusion parameters derived from DCECT and MVD.<sup>18-22</sup> However, perfusion parameters have never been correlated with MVD or used as a prognostic indicator in spontaneous canine tumors.

The objectives of our study were (1) to compare the perfusion parameters derived from DCECT and the MVD in a group of dogs with tumors of the head, (2) to correlate perfusion parameters and MVD with survival time and (3) to compare perfusion parameters and MVD between epithelial and mesenchymal tumors. Our hypotheses were that there would be a positive correlation between the perfusion parameters and the MVD, that the perfusion parameters and the MVD would be correlated with survival and that epithelial and mesenchymal tumors would have different perfusion parameters and MVD.

## Methods

### *Experimental design*

This is a prospective cross-sectional study.

### *Case selection*

Client-own dogs presented to the Small Animal Teaching Hospital (SATH) of the University of Liverpool for suspicion of tumors originating from the nasal cavities or facial bones and soft tissues were prospectively enrolled from January 2017 to January 2020. Owner consent allowing for diagnostic

tests including DCECT was obtained before inclusion into the study. Ethics approval was granted by the Veterinary Research Ethics Committee of the University of Liverpool under the reference VREC560a. To meet the inclusion criteria, a histological diagnosis of neoplasia was required, and dogs must have undergone at least a baseline DCECT. Dogs who had already received RT, tyrosine kinase inhibitors or chemotherapy were excluded. Dogs receiving other non-chemotherapeutic medical treatments for their tumor (anti-inflammatory and antimicrobial medications) were not excluded.

#### *Clinical data*

Histological tumor types were determined on biopsy samples by board-certified pathologists and classified as epithelial (squamous cell carcinoma, transitional cell carcinoma, adenocarcinoma, undifferentiated carcinoma, acanthomatous ameloblastoma) or mesenchymal (fibrosarcoma, chondrosarcoma, hemangiosarcoma, undifferentiated sarcoma). Treatments received for the tumor were categorized as megavoltage RT (12 fractions of 4 Gy on a Monday, Wednesday, Friday basis), chemotherapy (1 dog), none, or palliative (e.g. non-steroidal anti-inflammatory drugs [NSAID], corticosteroids, paracetamol).

#### *Immunostaining*

Sections of tissue fixed in 4% paraformaldehyde solution underwent tissue processing using a Tissue-Tek vacuum infiltration processor (VIP) overnight before being embedded in paraffin (Ultraplast premium embedding medium, Solmedia). Paraffin sections of 4 µm were cut on a Leica RM2125 RT microtome. Slides were stained using standard hematoxylin and eosin H&E staining techniques.

Immunostaining was performed on a Dako Autostainer Link 48 using Envision FLEX reagents.

Following a buffer rinse, tissue sections underwent a peroxidase block for 5 min (Agilent, SM801) before being incubated for 20 min with mouse monoclonal antibodies against mammalian Factor VIII antigens (Agilent, A0082). The Factor VIII (1:2000) antibodies were diluted in Envision FLEX antibody diluent (Agilent, K8006). Antibody binding was detected using the labelled polymer Envision FLEX/HRP (Agilent, SM802) for 20 min, and the reaction was visualized using the substrate-chromogen FLEX 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) + SubChromo (Agilent, DM827 and SM802). Tissue sections were counter-stained for 5 min in Envision FLEX hematoxylin (Agilent, K8008), washed in deionized water, and dehydrated through increasing grades of ethanol (85%, 96%, 3 X 100%) before clearing in xylene and mounted. All intermediate buffer washes between reagents used Envision FLEX wash buffer (K8007).

#### *Measurement of MVD*

Examination and analysis of the slides was conducted by a European College of Veterinary Pathology resident (PR) under the supervision of a European College of Veterinary Pathology board-certified veterinary pathologist (LR). Hematoxylin and eosin and DAB immunostained slides were scanned at 40X magnification using an Aperio slide scanner. Digital slides were examined using QuPath v0.2.3.<sup>23</sup> An object classifier to detect blood vessels based on DAB-positive staining was trained on representative sections of tumor and stroma from 13 slides. To improve sensitivity, areas of likely false

positivity such as fibrin clots and epithelium were excluded from representative sections. 3,3'-Diaminobenzidine positive cell detection was conducted on the optical density sum image using default settings with the exception of background radius which was set at 4  $\mu\text{m}$ . The intensity threshold parameters were assessed on the cell mean with threshold positivity set at 0.035.

Smoothed features for each detection with a radius of 25  $\mu\text{m}$  were added using the "Smooth object features" command. Tissue within representative sections was manually annotated as either "blood vessel" or "non-blood vessel". A Random trees object classifier was then trained on detections and annotations. The accuracy of the object classifier was assessed on a testing set of 5 slides. Representative sections of tumor and stroma were selected, DAB positive cell detection and adding of smoothed features were conducted as for training slides. Test slides were duplicated along with detections and annotations, with one copy manually annotated for presence of blood vessels and the object classifier applied to the other. Detection features were exported from the manually annotated and object classifier copies of test slides and compared to determine the object classifier's specificity and sensitivity.

For comparing the prevalence of blood vessels in epithelial and mesenchymal tumors, DAB-stained slides were examined. All contiguous tissue on the slide was annotated as either tumor or stroma based on histologic appearance. An area was annotated as tumor if it was composed of neoplastic cells and tumor stroma. An area was annotated as stroma if it was composed of normal connective tissue and contained no neoplastic cells or epithelium. Areas of high false positive DAB staining were excluded from annotated areas. DAB positive cell detection and addition of smoothed features were carried out as previously described before the object classifier was applied to the annotations. Measurements of detections from all slides were exported including object classifications (blood vessel or non-blood vessel), parent annotation (tumor or stroma) and cell area (Figure 1).

Data was processed in Python using pandas v0.25.3<sup>24</sup> to calculate the total number of detections and cell area in tumor and stroma annotations and subsequently the percentage detections (PctBVtum and PctBVstrom in tumor tissue and stroma, respectively) and cell area (PctAreaBVtum and PctAreaBVstrom in tumor tissue and stroma, respectively) that was classified as BV by the object classifier.

#### *Dynamic contrast-enhanced computed tomography*

All dogs were premedicated with medetomidine (0.003 to 0.01 mg/kg) in association with butorphanol, buprenorphine or methadone. Anesthesia was induced using propofol or alfaxalone (to effect) and maintained using sevoflurane. Dynamic contrast-enhanced CT was performed using an 80-slice CT scan (Aquilion Prime 80, Canon Medical System) with dogs in sternal or dorsal recumbency depending on the location of the mass. Dogs whose owners elected RT were immobilized using a thermoplastic mask and customized head support, secured to a plastic head frame with 4 points of fixation, as part of the standard RT procedure.

A pre-contrast CT scan of the head was acquired. Scanning parameters were 120 kV, variable mAs using Automatic Exposure Control, pitch factor 0.625, and images were reconstructed at 1 mm slice

thickness using bone and soft tissue reconstruction algorithms. Dynamic contrast-enhanced CT planning was done using the pre-contrast soft tissue reconstruction in a soft tissue window (window width: 200 HU, window level 40 HU).

A 4-cm length field of view was chosen to include the entirety of the tumor or the tumor center if the total mass was longer than 4 cm.

A 60-second continuous scan starting with intravenous injection of 2 mL/kg body weight of iodinated contrast medium (Ioversol 300 mg/mL iodine) using a power injector set at 3 mL/s injection rate (maximal allowable injection pressure set at 150 psi) and followed by a bolus flush of saline 1 mL/kg at the same injection rate. Scanning parameters were 80 kV, 200 mA, 0.75 s rotation time, 0.5 mm scan slice thickness, 1 s time interval and 2 mm reconstruction slice thickness. Images were reconstructed using a soft tissue reconstruction algorithm.

A post-contrast CT scan of the head was performed immediately after the perfusion CT (90 seconds after intravenous injection of iodinated contrast medium), using the same scanning parameters as for the pre-contrast scan.

#### *Images and perfusion analysis*

Conventional CT images of the head were reviewed by a European College of Veterinary Diagnostic Imaging board-certified radiologist (JM) blinded to the clinical data of the dogs, using a Macintosh workstation and an image viewer (OsirixMD, Pixmeo). Images were viewed using both a soft tissue window (window width: 200 HU, window level: 40 HU) and a bone window (window width: 4500 HU and window level: 450 HU). Multiplanar reconstruction was performed for each dog. Length, width, and height of the mass with planes parallel and orthogonal to those of the head were measured and the volume of the tumor (using the ellipsoid formula  $V=4/3\pi xLxWxH$ ) was calculated.

Dynamic contrast-enhanced computed tomographic images were analyzed using an adiabatic approximation to the tissue homogeneity (ATH) model implemented with MATLAB™ (MathWorks, Massachusetts), designed as part of a previous study.<sup>39</sup> An arterial input function was first contoured, and a time-attenuation curve displayed to verify it had a shape consistent with arterial blood flow. The artery selected for the arterial input function was the deep lingual artery as it was consistently the largest artery included in the field of view not surrounded with bone. To appropriately contour the artery without selecting peripheral lingual tissue the image was zoomed in and contoured on the arterial phase (veins not contrast-enhanced). Only the centre of the artery was included when possible. The mass was then contoured manually slice by slice on every slice containing suspected tumoral tissue. Care was taken not to include bone within the contouring. Perfusion parameters obtained from the analysis were blood flow (BF) and transit time (TT). Fractional vascular fraction (blood volume, BV) could then be calculated using the following formula:  $BV=TT \times BF$ . Perfusion analysis was performed by one trained operator (JM). Perfusion parameters of the nasal tumors and orofacial tumors included in this study were previously described.<sup>25,26</sup>

#### *Statistical analysis*

All statistical tests were selected and performed by a statistician using R (version 3.6.2, The R Foundation for Statistical Computing). All dependent and independent variables were derived from the clinical data, CT examinations and histopathological examinations. Descriptive statistics were calculated for data where appropriate; categorical variables were summarized as frequencies with 95% confidence intervals (CI) and continuous variables as means and standard deviations or medians with interquartile ranges (IQR). The distribution of any continuous variable was assessed for deviation from normal distribution with the Shapiro-Wilk test.

Univariable comparison of survival times and associations between survival and independent variables histological group (epithelial and mesenchymal), tumor volume, BF, BV, TT (25 dogs), volume change, BF change, BV change, TT change (between the first and second DCECT, on 12 dogs) were examined with the Pearson correlation test for variables with a normal distribution and Spearman correlation test for variables with a non-normal distribution.

For the 12 dogs that were re-scanned, linear regression was used to compare the change in tumor parameters (volume, BF, BV, TT) between epithelial tumors and sarcomas.

Multiple regression analysis was carried out to identify existing relationships between the variables BV, BF, MTT, tumor volume and histological group and the variables PctBVtum, PctAreaBVtum, PctBVstrom and PctAreaBVstrom.

In a second time, a Levene test was carried out to test equality of variances between the two groups (epithelial tumors VS mesenchymal tumors) and one-sided Student T-tests were used to analyze mean differences between the normal continuous variables (BV, BF, TT, PctBVtum, PctAreaBVtum, PctBVstrom and PctAreaBVstrom). *P*-values <.05 were considered significant.

## Results:

### 1. Clinical data

Twenty-five dogs met the inclusion criteria. Median age was 9.5 years (1.5-12.8); median weight was 20.7 kg (5.9-54). There were 4 crossbreeds, 3 Labradors, 2 border collies and 1 of each of the following breeds: rottweiler, West Highland white terrier, pug, Rhodesian ridgeback, Jack Russel terrier, Yorkshire terrier, Airedale terrier, cocker Spaniel, Airedale terrier, Irish setter, lurcher, border terrier, Cairn terrier, English springer terrier, boxer and beagle. Twelve dogs were spayed females, 7 were castrated males, 4 were intact males and 2 were intact females.

There were 16 epithelial tumors and 9 mesenchymal tumors. Epithelial tumors included 5 carcinomas, 4 squamous cell carcinomas, 3 transitional carcinomas, 3 adenocarcinomas, and 1 acanthomatous ameloblastoma. Mesenchymal tumors included 5 chondrosarcomas, 2 poorly differentiated sarcomas, 1 fibrosarcoma, and 1 hemangiosarcoma.

Seventeen dogs had a tumor originating from the nasal cavity (5 carcinomas, 5 chondrosarcomas, 3 adenocarcinomas, 3 transitional carcinomas, 1 hemangiosarcoma), 3 had a tumor centered on the palatine bone (2 poorly differentiated sarcomas, 1 squamous cell carcinoma), 2 had a tumor centered on

the maxillary bone (1 fibrosarcoma, 1 squamous cell carcinoma), 2 had a tumor centered on the mandible (both squamous cell carcinomas), and 1 had a tumor centered on the incisive bone (acanthomatous ameloblastoma).

At presentation, 6 dogs were receiving NSAID, 3 dogs were receiving a treatment classified as “other” (trimethoprim-sulfamethoxazole in 1 dog, amoxicillin-clavulanate in 1 dog, and vitamin K1 in 1 dog), 2 dogs were receiving corticosteroids and 14 dogs had no treatment at the time of presentation.

Fifteen dogs had RT, 1 dog had chemotherapy without RT (carboplatin 10 mg/kg once a week for 3 weeks), 6 dogs had palliative treatment only and 3 dogs had no treatment.

In total, 19/25 dogs had a record of their heart rate during the baseline DCECT, at the time of injection of contrast medium. All were considered appropriate by the attending anesthetist and ranged from 40 to 130 bpm (median 85 bpm). Similarly, systolic blood pressure was obtained for 13 dogs and ranged from 80 to 130 mmHg (median 100 mmHg).

## 2. Imaging findings

Median volume of the epithelial tumors was 108.3 (14.5-426.3) cm<sup>3</sup> and median volume of the mesenchymal tumors was 150.8 (12.7-320.8) cm<sup>3</sup>.

Median BV, BF and TT for the mesenchymal tumors were 8.1 (2.5-18.3) mL/100g, 59.9 (3.8-121.6) mL/100g/min, and 9.5 (4.5-49.6) s. Median BV, BF and TT for the epithelial tumors were 17.8 (3-66) mL/100g, 132.1 (48-274.2) mL/100g/min, and 7 (4.1-14.2) s.

Mesenchymal tumors had a significantly lower BV ( $P=.008$ ) and BF ( $P=.003$ ) than epithelial tumors, while there was no significant difference in TT.

Changes in volume and perfusion parameters between baseline and repeat DCECT were not significantly different between mesenchymal and epithelial tumors.

## 3. Microvascular density

All tumors were annotated for tumor and stroma tissue yielding 11 annotations of epithelial tumor associated stroma, 12 annotations of epithelial tumor, 7 annotations of mesenchymal tumor and 5 annotations of mesenchymal tumor associated stroma for cell detection.

Median PctBVtum, PctAreaBVtum, PctBVstrom and PctAreaBVstrom for epithelial tumors were 2.3% (0.4-4.5%), 2.8% (0.6-4.1%), 11.2% (5.2-22.6%), and 12% (4.7-22%).

Median PctBVtum, PctAreaBVtum, PctBVstrom and PctAreaBVstrom for mesenchymal tumors were 4.4% (0.5-17.6%), 4.4% (0.8-17.3%), 13.2% (9.1-18.6%), and 14.4 (9.4-18.5%).

Mesenchymal tumors had significantly higher PctAreaBVtum than epithelial tumors ( $P=.04$ ).

## 4. Association between perfusion parameters and MVD

There was no significant association between perfusion parameters derived from DCECT and MVD measurements.

## 5. Survival analysis

Median survival time was 262.5 days in dogs with an epithelial tumor, and 374 days in dogs with a mesenchymal tumor. Baseline TT was positively correlated with survival. The other perfusion

parameters, the changes in perfusion parameters between baseline and repeat DCECT, and the MVD were not correlated with survival.

## Discussion

In this study we found that epithelial tumors had higher perfusion parameters than mesenchymal tumors in a cohort of dogs with various tumors of the head. This result is in keeping with previous studies in veterinary medicine. The first one included 31 dogs with spontaneous tumors (15 carcinomas and 16 sarcomas of various origins and sites) and showed that carcinomas had higher BF than soft tissue sarcomas. However, bone sarcoma had higher BF than soft tissue sarcoma in their study.<sup>17</sup> A second study assessed the perfusion parameters in 9 dogs with nasal tumors. Only 1 dog had a sarcoma but interestingly, this dog showed the lowest tumor perfusion parameters.<sup>27</sup> In human medicine, perfusion parameters of carcinomas and sarcomas are not classically compared, yet soft tissue sarcomas seem to have lower perfusion parameters than carcinomas as well.<sup>28,29</sup>

Mesenchymal tumors had a higher PctAreaBVtum than epithelial tumors in our study. This seems in contrast with the greater BV and BF of epithelial tumors compared to mesenchymal tumors on DCECT. However, DCECT perfusion parameters were calculated on the entire mass, including stromal and tumoral tissue, and does not reflect specifically the percentage area of blood vessel within tumoral tissue. Although only PctAreaBVtum was significantly different between epithelial and mesenchymal tumors, the MVD parameters of mesenchymal tumors were all higher than those of epithelial tumors in our study. These results, along with the greater BV and BF of epithelial tumors compared to mesenchymal tumors, suggest that the number of blood vessels and tumor perfusion might be poorly correlated. One hypothesis could be that blood vessels in sarcomas have more structural and functional abnormalities than in carcinomas resulting in reduced blood flow. Other parameters of the tumor microenvironment such as interstitial pressure might also play a role in the overall tumor perfusion.<sup>30</sup> Alternately, this could also be because the pathological evaluation was done on a single tissue section, that might not be representative of the whole tumor.

Multiple studies in human medicine tried to correlate DCECT perfusion parameters and MVD and yielded inconsistent results, but several studies found positive correlations between BV, BF or both with MVD. This was the case in pancreatic tumors, prostatic tumors, adrenal tumors, head and neck squamous cell carcinomas, colorectal tumors, and soft tissue sarcomas.<sup>18–22,31–33</sup> Only one study found a positive correlation between TT and MVD, and the authors hypothesized that morphologically abnormal, leaky, and loopy vessels could explain this correlation.<sup>19</sup>

In the present study a higher TT was associated with longer survival times. In human medicine, similar results were found in colonic cancer and hepatocellular carcinoma where high TT was also positively associated with survival.<sup>34,35</sup> It is hypothesized that tumors with a short TT could have multiple arteriovenous shunts, leading to impaired oxygenation, which is associated with poor outcome.<sup>36</sup> On the other hand, lower TT has also been associated with a better prognosis in human head

and neck squamous cell carcinomas. In this study, the authors mentioned that a short TT could also be due to leaky vessels, that could increase tumor oxygenation and therefore be associated with a better outcome.<sup>36</sup>

We did not find any correlation between BV and BF and survival time. This was a surprising result insofar as these parameters are more frequently correlated with outcome than TT in human literature, and high pre-treatment BV and BF were correlated with better prognosis and response to treatment.<sup>36-40</sup> This could be explained by the fact that well perfused and oxygenated tumors will receive more chemotherapy and tend to be more responsive to the direct effects of radiotherapy.<sup>41</sup> Changes in perfusion parameters between first and repeat DCECT were also not associated with survival in our study. In humans, a rapid and persistent decrease in perfusion parameters during chemoradiation of head and neck carcinomas has been correlated with a better outcome.<sup>14,39,42</sup> A decrease in perfusion parameters during chemoradiation could represent direct vessel destruction and reduction of arteriovenous shunts in the microvasculature.<sup>14</sup>

There was no correlation between MVD and survival in our study. High MVD has been correlated to better radiosensitivity and better local tumor control in humans with head and neck carcinomas.<sup>3,4</sup> In veterinary medicine, high MVD was associated with higher occurrence of lymph node metastasis and malignancy in canine mammary tumors.<sup>5,8</sup> Microvascular density was also higher in poorly differentiated than in well-differentiated squamous cell carcinomas of the skin in dogs, and canine cutaneous mast cell tumors with high MVD were more invasive, had a higher mitotic index and were associated with shorter survival times.<sup>6,7</sup>

Our study has several limitations. The number of dogs included was small, and tumor types and sites were varied. Some samples were relatively small biopsies whose vascular density may not reflect the overall tumor vascularity. It is the authors' experience that there's considerable variation in the histological vascularity of different subtypes of oral and nasal mesenchymal and epithelial tumors. For example, biopsies of chondrosarcomas are largely avascular as they consist mainly of cartilaginous matrix and neoplastic cells with little surrounding connective tissue whereas fibrosarcomas are far more vascular within biopsy specimens. This likely accounts for the large variation in vascularity as detected by histology. A similar pattern is observed for epithelial tumors with nasal adenocarcinomas, with exophytic growth into the nasal lumen, being sparsely vascular whereas squamous cell carcinomas which invade the lamina propria and establish a desmoplastic response are much more vascular. This microscopic view might not reflect the gross view established by imaging which would take into consideration wider changes in vascularization. For example, areas of chondrosarcoma may elicit an increased vascularization in adjacent tissue which would not be visible on histologic sections that are dominated by tumor tissue.

The variety of treatments used in our population highly biased the survival analysis, and further studies with standardized treatment are needed to confirm our results. Some dogs received anti-

inflammatory medications before DCECT, and their anti-COX-2 activity could alter the perfusion parameters.<sup>43</sup>

Intra and inter-observer variability have not been calculated in this study but would have been interesting, especially since it represents the highest contributor to overall variability in DCECT. On the other hand, patients' blood pressure was not found to have a significant impact on the perfusion analysis.<sup>44</sup>

Finally, only the center of masses longer than 4 cm was included in the perfusion analysis, and the parts of the tumor close to vessels and bone were also excluded from the contouring. This may affect the perfusion results.

In conclusion, the present study showed that epithelial tumors had higher BF and BV than mesenchymal tumors on DCECT but lower percentage area of blood vessels determined histologically than mesenchymal tumors, and that TT was positively associated with survival in a case series of dogs with head tumors. These results add to the scarce literature about functional imaging of tumors in dogs and pave the way for future understanding of canine tumor vascularization and perfusion and their implications on prognosis.

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Cell Line validation statement: no cell line has been used in this study.

## References:

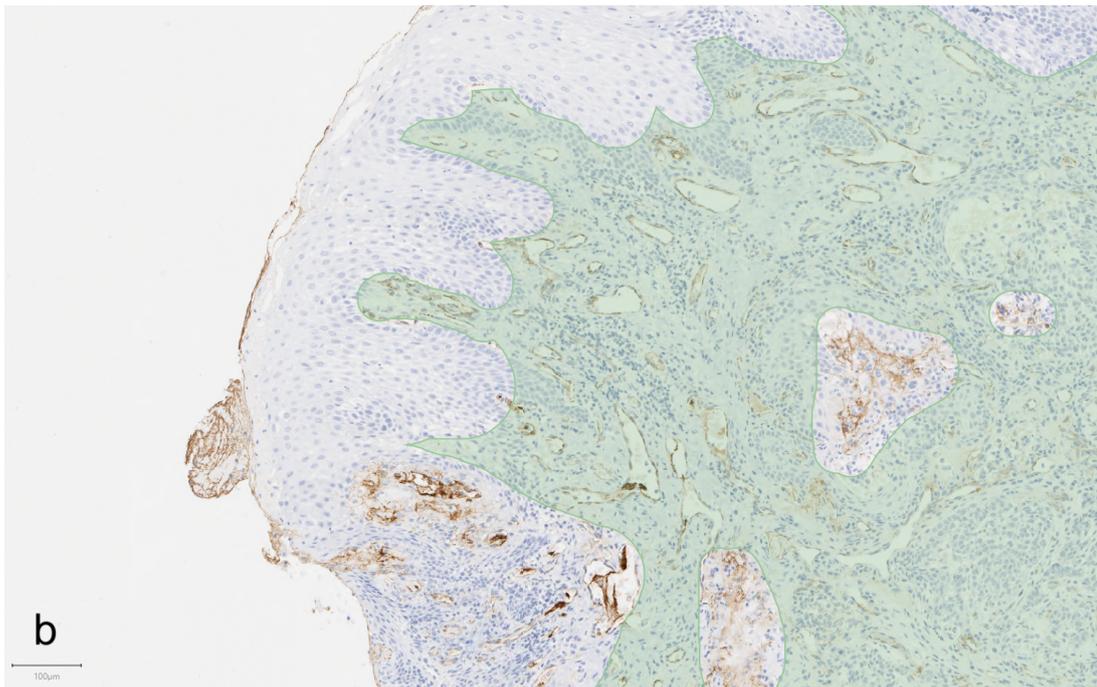
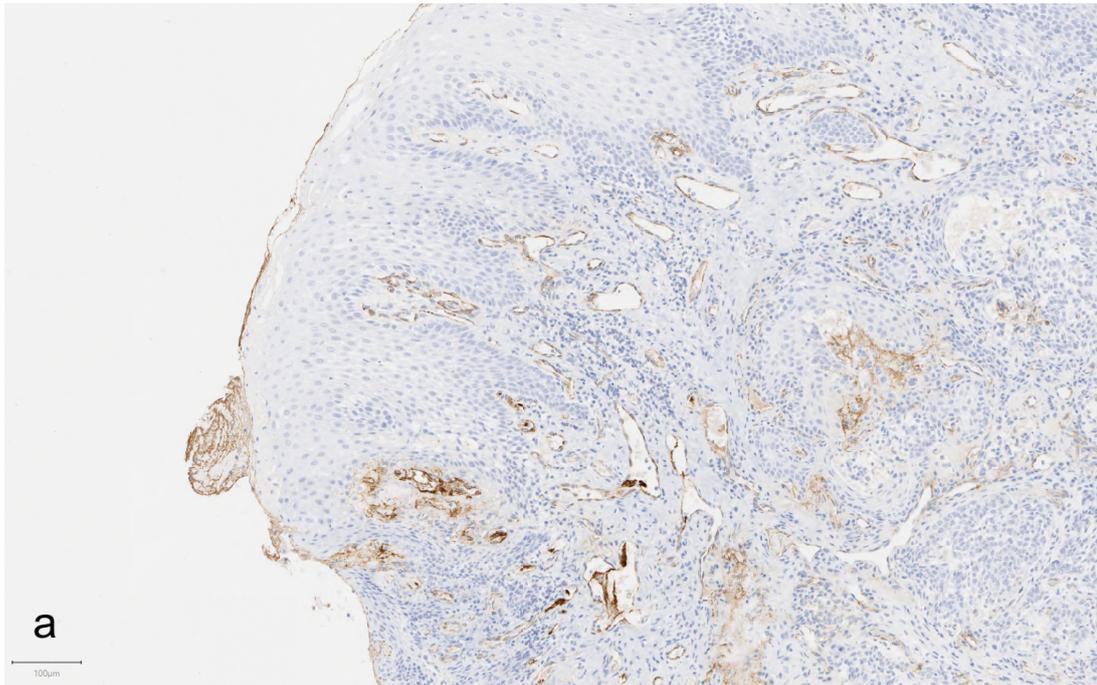
1. Cray M, Selmic LE, Kindra C, et al. Analysis of risk factors associated with complications following mandibulectomy and maxillectomy in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2021;259(3):265-274. doi:10.2460/javma.259.3.265
2. Weeden AM, Degner DA. Surgical Approaches to the Nasal Cavity and Sinuses. *Vety Clin North Am: Small Anim Pract.* 2016;46(4):719-733. doi:10.1016/j.cvsm.2016.02.004
3. Kamijo T, Yokose T, Hasebe T, et al. Potential role of microvessel density in predicting radiosensitivity of T1 and T2 stage laryngeal squamous cell carcinoma treated with radiotherapy. *Clin Cancer Res.* 2000;6(8):3159-3165.
4. Zhang SC, Miyamoto SI, Kamijo T, et al. Intratumor microvessel density in biopsy specimens predicts local response of hypopharyngeal cancer to radiotherapy. *Jpn J Clin Oncol.* 2003;33(12):613-619. doi:10.1093/jjco/hyg121
5. Graham JC, Myers RK. The prognostic significance of angiogenesis in canine mammary tumors. *J vet intern med.* 1999;13(5):416-418. doi:10.1111/j.1939-1676.1999.tb01456.x
6. Maiolino P, Papparella S, Restucci B, De Vico G. Angiogenesis in squamous cell carcinomas of canine skin: An immunohistochemical and quantitative analysis. *J Comp Pathol.* 2001;125(2-3):117-121. doi:10.1053/jcpa.2001.0485

7. Preziosi R, Sarli G, Paltrinieri M. Prognostic value of intramural vessel density in cutaneous mast cell tumour of the dog. *J Comp Pathol.* 2004;130(2-3):143-151. doi:10.1016/j.jcpa.2003.10.003
8. Restucci B, De Vico G, Maiolino P. Evaluation of Angiogenesis in Canine Mammary Tumors by Quantitative Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule Immunohistochemistry. *Vet Pathol.* 2000;37(4):297-301. doi:10.1354/vp.37-4-297
9. Coomber BL, Denton J, Sylvestre A, Kruth S. Blood Vessel Density in Canine Osteosarcoma. *Can J Vet Res.* 1998;62(3):199-204.
10. Saggiaro M, D'Angelo E, Bisogno G, Agostini M, Pozzobon M. Carcinoma and Sarcoma Microenvironment at a Glance: Where We Are. *Front Oncol.* 2020;10(March):1-9. doi:10.3389/fonc.2020.00076
11. Morgan MJ, Lurie DM, Villamil AJ. Evaluation of tumor volume reduction of nasal carcinomas versus sarcomas in dogs treated with definitive fractionated megavoltage radiation: 15 cases (2010-2016). *BMC Res Notes.* 2018;11(1):1-6. doi:10.1186/s13104-018-3190-3
12. Klotz E, Haberland U, Glatting G, et al. Technical prerequisites and imaging protocols for CT perfusion imaging in oncology. *Eur J Radiol.* 2015;84(12):2359-2367. doi:10.1016/j.ejrad.2015.06.010
13. Razek AAKA, Tawfik AM, Elsorogy LGA, Soliman NY. Perfusion CT of head and neck cancer. *Eur J Radiol.* 2014;83(3):537-544. doi:10.1016/j.ejrad.2013.12.008
14. Preda L, Calloni SF, Moscatelli MEM, Cossu Rocca M, Bellomi M. Role of CT perfusion in monitoring and prediction of response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Res Int.* 2014;2014:917150. doi:10.1155/2014/917150
15. Petralia G, Bonello L, Viotti S, Preda L, D'Andrea G, Bellomi M. CT perfusion in oncology: How to do it. *Cancer Imaging.* 2010;10(1):8-19. doi:10.1102/1470-7330.2010.0001
16. Troeltzsch D, Niehues SM, Fluegge T, et al. The diagnostic performance of perfusion CT in the detection of local tumor recurrence in head and neck cancer. Hiebl B, Krüger-Genge A, Jung F, eds. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2020;76(2):171-177. doi:10.3233/CH-209209
17. Nitzl D, Ohlerth S, Mueller-Schwandt F, Angst A, Roos M, Kaser-Hotz B. Dynamic computed tomography to measure tissue perfusion in spontaneous canine tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009;50(4):347-352. doi:10.1111/j.1740-8261.2009.01548.x
18. Ash L, Teknos TN, Gandhi D, Patel S, Mukherji SK. Head and neck squamous cell carcinoma: CT perfusion can help noninvasively predict intratumoral microvessel density. *Radiology.* 2009;251(2):422-428. doi:10.1148/radiol.2512080743
19. Luczynska E, Gasinska A, Blecharz P, Stelmach A, Jereczek-Fossa BA, Reinfuss M. Value of perfusion CT parameters, microvessel density and VEGF expression in differentiation of benign and malignant prostate tumours. *Pol J Pathol.* 2014;3(3):229-236. doi:10.5114/pjp.2014.45787
20. Osimani M, Bellini D, Di Cristofano C, et al. Perfusion MDCT of prostate cancer: Correlation of perfusion CT parameters and immunohistochemical markers of angiogenesis. *Am J Roentgen.* 2012;199(5):1042-1048. doi:10.2214/AJR.11.8267

21. d'Assignies G, Couvelard A, Bahrami S, et al. Pancreatic endocrine tumors: tumor blood flow assessed with perfusion CT reflects angiogenesis and correlates with prognostic factors. *Radiology*. 2009;250(2):407-416. doi:10.1148/radiol.2501080291
22. Mayer P, Fritz F, Koell M, et al. Assessment of tissue perfusion of pancreatic cancer as potential imaging biomarker by means of Intravoxel incoherent motion MRI and CT perfusion: correlation with histological microvessel density as ground truth. *Cancer Imaging*. 2021;21(1):1-12. doi:10.1186/s40644-021-00382-x
23. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):1-7. doi:10.1038/s41598-017-17204-5
24. McKinney W. Data Structures for Statistical Computing in Python. In: *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*. Vol 1. ; 2010:56-61. doi:10.25080/Majora-92bf1922-00a
25. Mortier JR, Maddox TW, Blackwood L, La Fontaine MD, Busoni V. Dynamic contrast-enhanced computed tomography in dogs with nasal tumors. *J Vet Intern Med*. 2023;37(3):1146-1154. doi:10.1111/jvim.16722
26. Mortier JR, Maddox TW, Blackwood L, La Fontaine MD, Busoni V. Dynamic contrast-enhanced computed tomography in 11 dogs with orofacial tumors. *Am J Vet Res*. 2023;(Iv):1-7. doi:10.2460/ajvr.22.12.0207
27. Camp S, Fisher P, Thrall DE. Dynamic ct measurement of contrast medium washin kinetics in canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2000;41(5):403-408. doi:10.1111/j.1740-8261.2000.tb01861.x
28. Trojanowska A, Trojanowski P, Bisdas S, et al. Squamous cell cancer of hypopharynx and larynx - Evaluation of metastatic nodal disease based on computed tomography perfusion studies. *Eur J Radiol*. 2012;81(5):1034-1039. doi:10.1016/j.ejrad.2011.01.084
29. Tian F, Hayano K, Kambadakone AR, Sahani D V. Response assessment to neoadjuvant therapy in soft tissue sarcomas: using CT texture analysis in comparison to tumor size, density, and perfusion. *Abdom Imaging*. 2015;40(6):1705-1712. doi:10.1007/s00261-014-0318-3
30. Vaupel P. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Semin Radiat Oncol*. 2004;14(3):198-206. doi:10.1016/j.semradonc.2004.04.008
31. Qin HY, Sun H, Wang X, Bai R, Li Y, Zhao J. Correlation between ct perfusion parameters and microvessel density and vascular endothelial growth factor in adrenal tumors. *PLoS One*. 2013;8(11):1-9. doi:10.1371/journal.pone.0079911
32. Goh V, Halligan S, Daley F, Wellsted DM, Guenther T, Bartram CI. Colorectal Tumor Vascularity: Quantitative Assessment with Multidetector CT—Do Tumor Perfusion Measurements Reflect Angiogenesis? *Radiology*. 2008;249(2):510-517. doi:10.1148/radiol.2492071365
33. Kambadakone A, Yoon SS, Kim TMM, et al. CT perfusion as an imaging biomarker in monitoring response to neoadjuvant bevacizumab and radiation in soft-tissue sarcomas: comparison

- with tumor morphology, circulating and tumor biomarkers, and gene expression. *Am J Roentgenol.* 2015;204(1):W11-W18. doi:10.2214/AJR.13.12412
34. Curvo-Semedo L, Portilha MA, Ruivo C, Borrego M, Leite JS, Caseiro-Alves F. Usefulness of Perfusion CT to Assess Response to Neoadjuvant Combined Chemoradiotherapy in Patients with Locally Advanced Rectal Cancer. *Acad Radiol.* 2012;19(2):203-213. doi:10.1016/J.ACRA.2011.10.019
35. Jiang T, Kambadakone A, Kulkarni NM, Zhu AX, Sahani D V. Monitoring Response to Antiangiogenic Treatment and Predicting Outcomes in Advanced Hepatocellular Carcinoma Using Image Biomarkers, CT Perfusion, Tumor Density, and Tumor Size (RECIST). *Invest Radiol.* 2012;47(1).
36. Bisdas S, Nguyen SA, Anand SK, Glavina G, Day T, Rumboldt Z. Outcome Prediction After Surgery and Chemoradiation of Squamous Cell Carcinoma in the Oral Cavity, Oropharynx, and Hypopharynx: Use of Baseline Perfusion CT Microcirculatory Parameters vs. Tumor Volume. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;73(5):1313-1318. doi:10.1016/j.ijrobp.2008.06.1956
37. Hermans R, Meijerink M, Van Den Bogaert W, Rijnders A, Weltens C, Lambin P. Tumor perfusion rate determined noninvasively by dynamic computed tomography predicts outcome in head-and-neck cancer after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;57(5):1351-1356. doi:10.1016/S0360-3016(03)00764-8
38. Bisdas S, Rumboldt Z, Surlan-Popovic K, et al. Perfusion CT in squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: long-term predictive value of baseline perfusion CT measurements. *Am J Neuroradiol.* 2010;31(3):576-581. doi:10.3174/ajnr.A1852
39. Truong MT, Saito N, Ozonoff A, et al. Prediction of locoregional control in head and neck squamous cell carcinoma with serial CT perfusion during radiotherapy. *Am J Neuroradiol.* 2011;32(7):1195-1201. doi:10.3174/ajnr.A2501
40. Tuntiyatorn L, Fusuwanakaya E, Sawangsilpa T, Bhongmakapat T. CT perfusion in predicting treatment response of nasopharyngeal carcinoma. *J Med Assoc Thai.* 2014;97(3):333-341.
41. Brizel DM, Sibley GS, Prosnitz LR, Scher RL, Dewhirst MW. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997;38(2):285-289. doi:10.1016/S0360-3016(97)00101-6
42. Surlan-Popovic K, Bisdas S, Rumboldt Z, Koh TS, Strojjan P. Changes in Perfusion CT of Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated during the Course of Concomitant Chemoradiotherapy. *Am J Neuroradiol.* 2010;31(3):570-575. doi:10.3174/ajnr.A1859
43. Mander K, Finnie J. Tumour angiogenesis, anti-angiogenic therapy and chemotherapeutic resistance. *Aust Vet J.* 2018;96(10):371-378. doi:10.1111/avj.12747
44. La Fontaine MD, McDaniel LS, Kubicek LN, Chappell RJ, Forrest LJ, Jeraj R. Patient characteristics influencing the variability of distributed parameter-based models in DCE-CT kinetic analysis. *Vet Comp Oncol.* 2017;15(1):105-117. doi:10.1111/vco.12143

Figures:



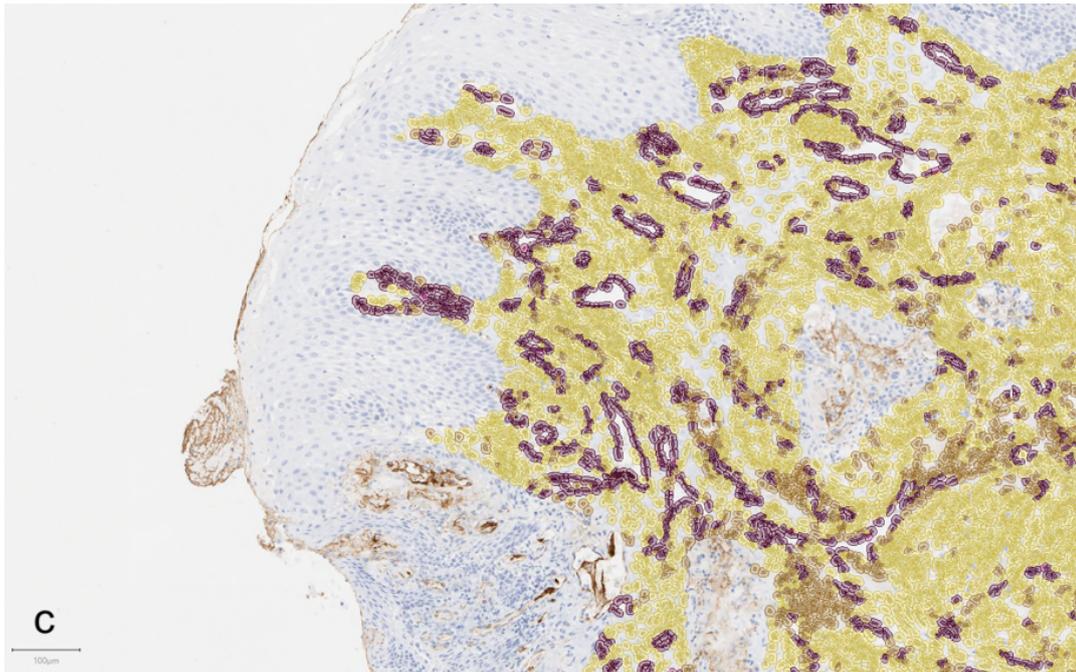


Figure 1: Photomicrographs showing selective annotation and cell detections classified as either blood vessel or non-blood vessel. (a) A DAB-stained section showing hyperplastic epithelium overlying stroma. (b) The area highlighted in green was annotated as stroma for analysis. The epithelium and sections of stroma with large areas of false positive DAB staining were excluded from the analysis. (c) Cell detections are colored as to whether they have been identified as DAB positive (dark coloration) or negative (light coloration) and identified by the classifier as blood vessel (maroon) or non-blood vessel (yellow).

---

# Discussion - Perspectives

---

## DISCUSSION GENERALE

### Introduction et mise en contexte

Les tumeurs non-résécables de la tête du chien, en particulier les tumeurs nasales, intra-crâniennes et oro-faciales, sont fréquemment traitées par RT (Dunfield *et al.* 2018). A ce jour, les méthodes de suivi en imagerie des chiens traités, afin d'évaluer la réponse au traitement, ne sont que peu standardisées au sein des centres de soin, et sont basées sur des modifications de taille de la tumeur au cours du temps (Rossmeisl *et al.* 2014, Nguyen *et al.* 2015, Thomson *et al.* 2016, Nell *et al.* 2020, Garcia-Mora *et al.* 2022). Les données de la littérature médicale suggèrent que ces méthodes de suivi morphologique sont mal corrélées à la réponse au traitement et au TMS, que ce soit en médecine humaine (Jiang *et al.* 2012, Coche *et al.* 2013, Hwang *et al.* 2013, Le Grange *et al.* 2014, Griffith & Jain 2016) comme en médecine vétérinaire (Zwingenberger *et al.* 2016, Morgan *et al.* 2018, Nell *et al.* 2020, Poirier *et al.* 2021).

Le processus de néoangiogenèse tumorale joue un rôle central dans la croissance et la propagation des tumeurs. Il s'agit actuellement d'un thème majeur en oncologie, et de nombreux nouveaux médicaments ciblant le processus néoangiogénique tumoral sont en cours de développement (Cuenod *et al.* 2006). Les neovaisseaux tumoraux sont immatures et diffèrent des capillaires normaux. Ils sont tortueux et irréguliers, ce qui se traduit par une perfusion peu efficace, ils présentent une perméabilité augmentée et ne répondent pas aux mécanismes normaux de régulation vasculaire. De plus, la microcirculation tumorale est hétérogène. L'évaluation de l'angiogenèse peut être utilisée comme marqueur pronostique pour évaluer l'agressivité de la tumeur et comme marqueur prédictif potentiel de la réponse au traitement antiangiogénique. Les techniques histopathologiques de la DMV nécessitent un échantillonnage invasif des tissus et doivent être standardisées (Cuenod *et al.* 2006).

En oncologie humaine, les applications et perspectives cliniques de l'imagerie fonctionnelle du tissu tumoral sont vastes, en particulier l'étude de la perfusion tumorale, qui a montré un intérêt dans le diagnostic, pronostic et suivi de nombreux types tumoraux (Beppu *et al.* 2001, Ellika *et al.* 2007, Jain *et al.* 2007, Jain *et al.* 2010, Petralia *et al.* 2010, Lee *et al.* 2012, Xyda *et al.* 2012, Jain *et al.* 2013, Shankar *et al.* 2013, Preda *et al.* 2014, Razek *et al.* 2014, Maarouf *et al.* 2015, Nyflot *et al.* 2015, Yeung *et al.* 2015, Ahmad *et al.* 2016, Satheesh Kumar *et al.* 2017). En médecine vétérinaire, cette technique n'a pour l'instant été que peu étudiée (Peterson *et al.* 2008, Camp *et al.* 2009, Kishimoto *et al.* 2011, Malinen *et al.* 2011, Hansen *et al.* 2012, Rødal *et al.* 2013, Zwingenberger *et al.* 2016, La Fontaine *et al.* 2017).

Par ailleurs, nombre d'études scientifiques ont démontré l'intérêt pronostique de la DMV tumorale, que ce soit en médecine humaine (Kamijo *et al.* 2000, Zhang *et al.* 2003) et en médecine vétérinaire (Coomber *et al.* 1998, Graham *et al.* 1999, Restucci *et al.* 2000, Maiolino *et al.* 2001, Preziosi *et al.* 2004, Clemente *et al.* 2013), et des études réalisées en médecine humaine ont permis de corrélérer les paramètres de perfusion DCECT à la DMV (Goh *et al.* 2008, Ash *et al.* 2009, d'Assignies *et al.* 2009, Satoh *et al.* 2010, Jain *et al.* 2011, Kim *et al.* 2012, Osimani *et al.* 2012, Qin *et al.* 2013, Luczynska *et*

al. 2014). Deux études chez le chien ont corrélé positivement les résultats de l'échographie Doppler et de l'échographie de contraste avec la DMV sur des types tumoraux variés (Ohlerth *et al.* 2010, Abma *et al.* 2019), mais une étude similaire sur des chiens en utilisant le DCECT n'a à ce jour pas encore été réalisée.

Ce travail s'inscrit pleinement dans ce contexte, et a eu pour objectif de décrire les caractéristiques morphologiques au CT et les paramètres de perfusion dérivés du DCECT des tumeurs nasales (*Étude I*), des masses intracrâniennes (tumeurs suspectées) (*Étude II*) et des tumeurs oro-faciales (*Étude III*) chez le chien, à la présentation initiale et après 12 Gy de RT mégavoltage (1 semaine après le début du traitement). Un autre objectif de ce travail a été d'essayer de trouver des associations entre ces caractéristiques morphologiques au CT et les valeurs des paramètres de perfusion, et entre ces caractéristiques et le pronostic (TMS).

Enfin, nous avons également tenté de trouver des associations entre ces paramètres de perfusion et la DMV chez une sous-population de ces chiens, présentant des tumeurs nasales ou des tumeurs oro-faciales (*Étude IV*).

#### Association entre les paramètres de perfusion et le type tumoral

En ce qui concerne les tumeurs nasales de l'*Étude I*, les sarcomes ont montré un BV et un BF initial plus faibles que les tumeurs épithéliales. Des résultats similaires ont été observés pour les tumeurs oro-faciales du chien dans l'*Étude III*, et bien qu'aucune analyse statistique inférentielle n'ait été réalisée en raison de la petite taille de notre population de cette étude, les résultats suggèrent que les tumeurs épithéliales oro-faciales pourraient également avoir des BV et BF plus élevés que les tumeurs mésenchymateuses. Les résultats similaires obtenus au sein de notre population de chiens dans l'*Étude IV* font sens, compte tenu du fait qu'il s'agit des mêmes chiens que pour les *Études I et III*.

Une étude précédente portant sur 31 chiens atteints de tumeurs variées (15 carcinomes et 16 sarcomes d'origine et de localisation diverses) et dans laquelle une analyse semi-quantitative de la perfusion a été réalisée, a montré que les sarcomes des tissus mous avaient un BF significativement plus faible que les carcinomes et les sarcomes osseux (Nitzl *et al.* 2009). Ces résultats sont en accord avec nos *Études I à III* et pourraient s'expliquer par la présence d'un stroma dense et d'une matrice extracellulaire pouvant être observés dans les sarcomes (Patnaik *et al.* 1984). Le stroma peut représenter des zones d'hypoxie dans les tumeurs, et le BF et le BV sont négativement corrélés avec le degré d'hypoxie tumoral (Koyasu *et al.* 2016, Qi *et al.* 2016). Par ailleurs, certaines tumeurs épithéliales telles que les SCC ont tendance à avoir une forte inflammation associée à la tumeur, ce qui pourrait expliquer en partie leur perfusion plus élevée par rapport aux sarcomes (Nemec *et al.* 2012). Il est de plus en plus évident que l'angiogenèse et l'inflammation sont liées et jouent un rôle coopératif dans diverses maladies inflammatoires. Ces deux phénomènes s'assemblent et l'hypoxie agit comme un stimulus commun pour les deux (Costa *et al.* 2007). Les tissus en prolifération pendant l'inflammation sont riches en cellules inflammatoires, en facteurs de croissance, en macrophages et autres cellules immunitaires qui libèrent plusieurs facteurs

angiogéniques dans des conditions hypoxiques (Jackson *et al.* 1997). À son tour, l'angiogenèse soutient l'état inflammatoire en fournissant de l'oxygène et des nutriments aux sites inflammatoires et en offrant une énorme surface pour la production des cytokines nécessaires, des molécules d'adhésion et d'autres médiateurs inflammatoires (Jackson *et al.* 1997, Costa *et al.* 2007). Cependant, le micro-environnement tumoral et sa relation avec l'hypoxie et la perfusion en médecine humaine et vétérinaire sont complexes et encore mal connus (Goel *et al.* 2012, Busk & Horseman 2013, Jain 2014).

Des études précédentes ont décrit les paramètres de perfusion des tumeurs nasales chez les chiens (Camp *et al.* 2000, La Fontaine *et al.* 2017). Une étude portant sur 9 chiens atteints de tumeurs nasales a rapporté des BF allant de 145 à 249 ml/minute/100 g avec des valeurs moyennes et médianes respectivement de 118 et 102 ml/minute/100 g (Camp *et al.* 2000). Ces résultats sont similaires à ceux de l'*Étude I* malgré les différences entre les protocoles d'acquisition DCECT et l'analyse des données. Dans l'*Étude I*, l'ensemble de la tumeur a été entourée lors de l'analyse de perfusion, à l'exception des extrémités rostrale et caudale pour les masses de plus de 4 cm. En revanche, l'étude précédente a sélectionné 2 régions d'intérêt de petite taille et de forme carrée sur une seule coupe de 5 mm d'épaisseur pour effectuer leur analyse de perfusion (Camp *et al.* 2000). Le type de modèle mathématique du logiciel d'analyse de perfusion était également différent du nôtre. Ils ont utilisé un modèle à compartiment unique, qui peut entraîner une sous-estimation du BF, alors que nous avons utilisé un modèle à double compartiment (Garcia-Figueiras *et al.* 2013). Huit de leurs chiens présentaient des tumeurs épithéliales et un chien présentait un sarcome, mais les paramètres de perfusion pour chaque chien n'ont pas été détaillés.

En revanche, les valeurs des paramètres obtenus dans notre étude diffèrent légèrement de ceux d'une étude précédente portant sur 11 chiens atteints de tumeurs nasales (7 carcinomes et 4 sarcomes) (La Fontaine *et al.* 2017). Les auteurs ont trouvé des moyennes pour le BF de 72, 69 et 51 mL/minute/100 g en utilisant 3 logiciels de perfusion différents (y compris celui utilisé dans notre étude), ce qui est inférieur au BF obtenu dans notre étude (moyenne, 122,63 mL/minute/100 g). De même, les moyennes du BV en utilisant les 3 logiciels de perfusion étaient inférieures à celle de l'*Étude I* (moyennes du BV : 6,6, 6,2 et 7,7 mL/100 g ; moyenne du BV dans notre étude : 17,83 mL/100 g). Le temps de transit, quant à lui, était similaire à celui trouvé dans notre étude (moyennes de TT : 5,7, 6,4 et 10,2 s ; TT moyen dans notre étude : 8,91 s). Bien que la méthode d'analyse des données ait été similaire, ces différences pourraient s'expliquer par des variations dans l'entourage de la tumeur et de l'artère entre les opérateurs, des différences dans les protocoles d'acquisition DCECT ou les deux (La Fontaine *et al.* 2017). Il est également intéressant de noter que les valeurs de BV, BF et TT entre les tumeurs nasales et oro-faciales (*Études I et III*) sont similaires. Cette observation paraît cohérente dans la mesure où les types tumoraux étaient relativement identiques (majorité de carcinomes et de sarcomes). Il aurait été intéressant de comparer ces valeurs à celles obtenues dans l'étude de Nitzl et collaborateurs (2009) ; malheureusement leur méthode analytique de perfusion n'est pas comparable à celle utilisée dans ce travail.

Concernant les tumeurs intracrâniennes, une étude portant sur 16 chiens atteints de différents types de masses cérébrales (dont 3 méningiomes et 7 gliomes, mais pas de masses hypophysaires) a montré que les méningiomes avaient le BV le plus élevé parmi toutes les masses, bien que leurs résultats ne soient pas statistiquement significatifs (MacLeod *et al.* 2009). Les auteurs ont également constaté que le rapport de surface de perméabilité (PS) était plus élevé pour les méningiomes que pour les autres masses cérébrales, mais le BF n'a pas été calculé dans cette étude. Bien que le protocole d'acquisition du DCECT ait été similaire à celui utilisé dans l'*Étude II*, la méthode d'analyse de perfusion n'a pas été décrite en détail et était possiblement différente, ce qui rend la comparaison des résultats difficiles. Un BF et un BV plus élevés pour les masses extra-axiales que pour les masses intra-axiales était un résultat attendu, car les premières sont situées en dehors de la barrière hémato-encéphalique et ont donc tendance à être hyper-vasculaires et à avoir des capillaires perméables (Hakyemez *et al.* 2006). Bien que l'imagerie de perfusion ne soit pas couramment utilisée pour différencier les masses intra-axiales des masses extra-axiales en médecine humaine, leurs résultats étaient comparables à ceux de l'*Étude II* (Hakyemez *et al.* 2006, Kremer *et al.* 2002). Les masses hypophysaires sont également considérées comme extra-axiales et présentent souvent un rehaussement marqué, suggérant une hyperperfusion, et on aurait donc pu s'attendre à des valeurs élevées de BV et de BF (Pollard *et al.* 2010). Dans l'*Étude II*, leurs valeurs de perfusion étaient élevées mais pas significativement différentes de celles des masses intra-axiales. Cela peut être dû au faible nombre de cas. L'imagerie de perfusion est rarement réalisée sur les adénomes hypophysaires en médecine humaine, ce qui rend impossible toute comparaison avec nos résultats (Bashari *et al.* 2019).

#### Association entre les paramètres de perfusion et la DMV

Dans l'*Étude IV*, les tumeurs mésoenchymateuses présentaient un pourcentage de surface de vaisseaux sanguins plus élevé que les tumeurs épithéliales. Ceci semble en contraste avec un BV et BF plus importants des tumeurs épithéliales par rapport aux tumeurs mésoenchymateuses. Cependant, les paramètres de perfusion DCECT ont été calculés sur l'ensemble de la masse, y compris le tissu stromal et tumoral, et ne reflètent pas spécifiquement le pourcentage de surface de vaisseaux sanguins au sein du tissu tumoral. Bien que seul le pourcentage de surface de vaisseaux sanguins fût significativement différent entre les tumeurs épithéliales et mésoenchymateuses, les paramètres de DMV des tumeurs mésoenchymateuses étaient tous plus élevés que ceux des tumeurs épithéliales de l'*Étude IV*. Ces résultats, ainsi que les BV et BF plus élevés des tumeurs épithéliales par rapport aux tumeurs mésoenchymateuses, suggèrent que le nombre de vaisseaux sanguins et la perfusion de la tumeur pourraient être mal corrélés. Une hypothèse pourrait être que les vaisseaux sanguins des sarcomes présentent plus d'anomalies structurelles et fonctionnelles que ceux des carcinomes, entraînant une réduction du flux sanguin. D'autres paramètres du micro-environnement tumoral, tels que la pression interstitielle, pourraient également jouer un rôle dans la perfusion globale de la tumeur (Vaupel *et al.* 2004).

De nombreuses études en médecine humaine ont tenté de corréler les paramètres de perfusion DCECT et la DMV, avec des résultats inconstants, mais plusieurs études ont trouvé des corrélations positives entre le BV, le BF, ou les deux, avec la DMV. Cela a été le cas pour les tumeurs pancréatiques, les tumeurs prostatiques, les tumeurs surrenaliennes, les carcinomes à cellules squameuses de la tête et du cou, les tumeurs colorectales et les sarcomes des tissus mous (Ash *et al.* 2009, d'Assignies *et al.* 2009, Osimani *et al.* 2012, Luczynska *et al.* 2014, Mayer *et al.* 2021). Une seule étude a trouvé une corrélation positive entre le TT et la DMV, et les auteurs ont émis l'hypothèse que des vaisseaux morphologiquement anormaux, présentant des fuites et des boucles, pouvaient expliquer cette corrélation (Luczynska *et al.* 2014). Cette inadéquation de résultats entre l'Étude IV et les données scientifiques en médecine humaine est difficile à expliquer, mais pourrait être due à des différences de microenvironnement tumoral entre les espèces, ou à des différences dans la réalisation technique de nos analyses histologiques et de perfusion, menant à des résultats contradictoires.

Il est également important de reconnaître que l'analyse de la DMV peut ne pas être représentative de la vascularisation (et de la perfusion) de l'ensemble de la tumeur. L'influence du microenvironnement tumoral sur le cancer présente souvent de fortes différences régionales (Gillies *et al.* 2012 ; Junttila *et al.* 2013). La preuve des variations spatiales a été bien documentée dans les observations pathologiques (Clemente *et al.* 1996, Galon *et al.* 2006, Kruger *et al.* 2013), ainsi que des variations de génotype des tumeurs liées à des microenvironnements différents (Little *et al.* 2012).

L'hétérogénéité des ressources tumorales résulte souvent d'une vascularisation irrégulière qui crée des zones hypoxiques ou arides (Alfarouk *et al.* 2013). Outre les variations spatiales, une hétérogénéité temporelle du microenvironnement est également présente, liée à la progression tumorale et aux traitements. Les conséquences cliniques et thérapeutiques de l'hétérogénéité spatiale et temporelle du microenvironnement tumoral sont aujourd'hui reconnues, et de nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelle (telles que le DCECT et l'IRM fonctionnelle) et d'analyse histologique assistée par ordinateur voient le jour (Yuan *et al.* 2016).

#### Association entre le volume tumoral, le type de tumeurs et le pronostic

La pertinence clinique des modifications du volume tumoral au cours de la RT est peu claire. Dans le cas des sarcomes des tissus mous des extrémités chez l'homme, une augmentation du volume au cours de la RT préopératoire est décrite, mais l'augmentation du volume n'est pas nécessairement associée à un moins bon pronostic (Le Grange *et al.* 2014, Haas *et al.* 2019). Le volume apparent de la tumeur peut augmenter en raison de l'œdème, de la nécrose et de l'inflammation plutôt que de la progression de la maladie, un phénomène appelé pseudo-progression (Griffith & Jain 2016). Conformément aux résultats de l'Étude I, une étude récente a fait état d'une réduction plus importante du volume des carcinomes nasaux par rapport aux sarcomes nasaux dans les 3 mois suivant la fin d'un traitement à base de RT mégavoltage définitive (Morgan *et al.* 2018). Cette observation pourrait s'expliquer par la perfusion plus faible des sarcomes par rapport aux carcinomes, car l'efficacité de la RT est positivement associée à la

perfusion tumorale chez l'humain (Preda *et al.* 2014, Hermans *et al.* 2003). Les corrélations entre les types de tumeurs, la réponse à la RT et le TMS ont rarement été explorées dans la littérature vétérinaire, avec des résultats variables (Lawrence *et al.* 2010, Sones *et al.* 2013, Kubicek *et al.* 2016, Morgan *et al.* 2018). Alors que le suivi de taille des tumeurs est la méthode d'évaluation de la réponse au traitement la plus utilisée, notamment la méthode RECIST, une étude récente a suggéré que la réduction du volume pendant la RT pouvait être associée à des tumeurs plus agressives et inversement corrélée à l'intervalle sans progression (Nell *et al.* 2020). Les sarcomes sino-nasaux de notre étude étaient généralement plus larges que les tumeurs épithéliales (environ deux fois plus volumineux en moyenne), ce qui pourrait avoir eu un impact sur la réponse initiale à la RT mesurée après l'administration de 12 Gy. En effet, les tumeurs de grande taille ont tendance à développer des zones hypoxiques ou nécrotiques, induisant une résistance à la RT (Hirata *et al.* 2017). Enfin, la plus faible réduction de volume des sarcomes pourrait également s'expliquer par un facteur de perte cellulaire plus faible (Tubiana *et al.* 1989). La population de chiens présentant une tumeur oro-faciale (*Étude III*) était trop faible pour observer une différence de modification de taille de la tumeur en fonction du type tumoral. On peut toutefois noter que la seule tumeur pour laquelle une augmentation de taille a été observée durant la RT était l'améloblastome acanthomateux. Les 3 SCC, le MM et le sarcome ont tous montré une diminution de taille lors du DCECT de contrôle.

Concernant les masses intracrâniennes de l'*Étude II*, les masses extra-axiales ont présenté un BF et un BV plus élevés que les masses intra-axiales et hypophysaires. Une étude prospective portant sur 34 chiens atteints de tumeurs intracrâniennes variées a décrit les volumes tumoraux initiaux et à 3 mois et 6 mois après la RT. Il a été constaté une diminution significative du volume de la tumeur au premier contrôle chez 62 % des chiens, maintenue ou encore diminuée lors du second contrôle. Cependant, aucune association n'a été identifiée entre le volume initial, la diminution de volume après traitement et le TMS (Zwingenberger *et al.* 2016).

Dans la population de l'*Étude II*, les masses intra-axiales présentent une diminution de taille plus importante que les masses extra-axiales et hypophysaires. Cependant, ce résultat doit être interprété avec prudence compte tenu du faible nombre de chiens présentant une masse intra-axiale, et de la difficulté technique à identifier et mesurer avec précision ces masses au CT. Le suivi par imagerie pendant ou après le traitement d'une tumeur cérébrale est rare et seulement très récemment standardisé en recherche vétérinaire, et les études évaluant une association entre les modifications de taille, le type de tumeur et la survie sont rares. Il semble qu'une réduction de la taille des gliomes 6 semaines après la RT pourrait être associée à une survie plus longue (Garcia Mora *et al.* 2022). Les résultats de l'*Étude II* ne sont pas en accord avec une étude précédente portant sur diverses tumeurs cérébrales, qui suggérait que les masses hypophysaires pouvaient être associées à une diminution de volume plus importante que les autres types de tumeurs (gliomes, méningiomes et tumeurs de la gaine du nerf trijumeau) 3 mois après la RT (Zwingenberger *et al.* 2016). Il est donc possible que les gliomes aient une réduction initiale de taille plus importante, mais que les tumeurs hypophysaires aient une réponse plus tardive. La toxicité

tumorale directe de la RT par l'intermédiaire des lésions de l'ADN étant liée à la multiplication cellulaire, les tumeurs agressives dont les cellules se multiplient rapidement répondent généralement mieux à la RT (Baskar *et al.* 2014). D'autre part, la toxicité indirecte de la RT par son action sur le micro-environnement tumoral (comme la vascularisation et le système immunitaire local) pourrait expliquer une réponse retardée (Hirata *et al.* 2017). On pourrait donc supposer que les masses intra-axiales, en général plus agressives que les masses extra-axiales et hypophysaires, puissent avoir une meilleure réponse précoce au traitement mais aussi une repopulation tumorale plus rapide.

#### Association entre les paramètres de perfusion initiaux, la réponse au traitement et le pronostic

Les corrélations entre les paramètres de perfusion tumorale obtenus par DCECT, la réponse au traitement et la survie en oncologie humaine sont inconstantes. Cependant, la plupart des études ont montré que les tumeurs de la tête et du cou présentant un BV et BF élevés avant traitement avaient un meilleur pronostic, à la fois en termes de réponse au traitement et de TMS (Hermans *et al.* 2003, Zima *et al.* 2007, Bisdas *et al.* 2009, Petralia *et al.* 2009, Bisdas *et al.* 2010, Truong *et al.* 2011, Tuntiyatorn *et al.* 2014, Pietsch *et al.* 2015). Cela pourrait s'expliquer par le fait que les tumeurs bien perfusées et oxygénées reçoivent plus de chimiothérapie et tendent à être plus répondantes aux effets directs de la RT (Brizel *et al.* 1997).

Dans l'*Étude I*, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre les valeurs des paramètres de perfusion initiaux et les modifications de volume tumoral entre le premier et le second DCECT, ni entre les valeurs des paramètres de perfusion initiaux et le TMS. En ce qui concerne l'*Étude III*, le nombre de chiens ayant subi un DCECT de contrôle était insuffisant, mais on peut toutefois noter que la seule tumeur dont la taille a augmenté au cours de la RT présentait également la deuxième valeur la plus élevée de BV et de BF. Dans l'*Étude IV*, un TT plus élevé était associé à des durées de survie plus longues. En médecine humaine, des résultats similaires ont été trouvés dans le cancer du côlon et le carcinome hépatocellulaire, où un TT élevé était également associé positivement à la survie (Curvo-Semedo *et al.* 2012, Jiang *et al.* 2012). Il est supposé que les tumeurs avec un TT court pourraient présenter de multiples shunts artérioveineux, conduisant à une mauvaise oxygénation, elle-même associée à un mauvais pronostic (Bisdas *et al.* 2009). À l'inverse, un TT plus bas a été associé à un meilleur pronostic dans les carcinomes à cellules squameuses de la tête et du cou chez l'homme. Dans cette étude, les auteurs ont mentionné qu'un TT court pouvait également être dû à un manque d'étanchéité des vaisseaux, qui pourrait augmenter l'oxygénation de la tumeur et donc être associé à un meilleur résultat (Bisdas *et al.* 2009).

#### Association entre les modifications des paramètres de perfusion durant RT, la réponse au traitement et le pronostic

Les modifications des paramètres de perfusion entre le premier DCECT et le DCECT de suivi n'ont pas été significativement associés à la survie dans les *Études I et II*. Aucune analyse statistique n'a été réalisée dans l'*Étude III*. Cependant, 3 des 4 chiens atteints de cette étude qui ont montré une réduction

de la taille de la tumeur pendant la RT ont également montré une augmentation du BF et du BV après administration de 12 Gy de RT. En ce qui concerne les tumeurs nasales, 2 études ont décrit des modifications non spécifiques des paramètres de perfusion pendant la RT chez 12 chiens (Camp *et al.* 2000, Rodal *et al.* 2013). Cependant, aucune de ces deux études n'a comparé les paramètres de perfusion DCECT au type de tumeur, à la réponse au traitement ou à la survie. Des rapports de cas portant sur deux chiens atteints de tumeurs oro-faciales a décrit des résultats de DCECT initial et au cours de cinq séances de traitement par IMRT (Malinen *et al.* 2011, Rodal *et al.* 2013). L'un des chiens a montré une augmentation de la perfusion pendant la RT, l'autre une diminution de perfusion tumorale. Leur technique DCECT était basée sur une évaluation semi-quantitative du rehaussement de la tumeur, et les modifications des paramètres de perfusion et du volume des tumeurs ne semblaient pas bien corrélées.

Des études chez des humains présentant des tumeurs de la tête et du cou traitées par RT ont montré qu'une augmentation initiale du BV ou du BF pendant le traitement, suivie d'une diminution de ces paramètres de perfusion était associée à un meilleur contrôle locorégional (Surlan-Popovic *et al.* 2010, Truong *et al.* 2011, Abramyuk *et al.* 2015). Ces résultats pourraient être expliqués par une augmentation initiale des micro-vaisseaux tumoraux et de la perméabilité vasculaire, permettant une bonne réponse à la RT, suivie d'une occlusion ou d'une destruction des vaisseaux tumoraux chez les bons répondants (Abramyuk *et al.* 2015). La persistance d'un BF et d'un BV bas après la RT, également associée à un bon contrôle locorégional, pourrait quant à elle signifier une absence de repopulation tumorale, une destruction durable des cellules endothéliales par l'irradiation, ou les deux. Une diminution précoce des paramètres de perfusion pendant la RT pourrait illustrer le développement de zones hypoxiques qui diminueraient la sensibilité de la tumeur à d'autres séances de RT (Surlan-Popovic *et al.* 2010, Truong *et al.* 2011, Abramyuk *et al.* 2015).

Concernant les tumeurs intracrâniennes de l'*Étude II*, les masses extra-axiales ont vu leur BF et BV diminuer de manière plus marquée pendant la RT que les autres groupes de tumeurs. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les masses extra-axiales étaient plus perfusées au départ, et que la toxicité de la RT sur la vascularisation aurait donc pu être plus prononcée dans ce groupe. Une étude récente s'est intéressée à la modification du volume et des paramètres de perfusion des tumeurs cérébrales (confirmées et suspectées) avant et entre 3 à 6 mois après la RT (Zwingenberger *et al.* 2016). Il a été constaté une diminution significative du BF, du BV et du PS après la RT, maintenue ou encore diminuée lors du second contrôle. Ces résultats combinés à ceux de l'*Étude II* suggèrent que la diminution des paramètres de perfusion DCECT débute précocement durant la RT, et qu'elle est maintenue ou en progression durant les 6 premiers mois suivant le traitement. Aucune association n'a cependant été identifiée entre les paramètres de perfusion et le TMS.

Les relations entre les paramètres de perfusion initiaux, leurs modifications après la RT et le pronostic ont été étudiées chez les personnes atteintes de gliomes de haut grade. Les gliomes de haut grade ont tendance à présenter des paramètres de perfusion initiaux plus élevés que les gliomes de bas grade, tandis que des paramètres de perfusion plus faibles après traitement ont été associés à un meilleur

pronostic (Beppu *et al.* 2011, Jain *et al.* 2013bis, Shankar *et al.* 2013, Maarouf *et al.* 2015, Yeung *et al.* 2015, Ahmad *et al.* 2016, Satheesh Kumar *et al.* 2017). Dans l'*Étude II*, le fait que les paramètres de perfusion initiaux et de suivi n'ont pas été associés à la modification de taille des masses et à la survie des chiens pourrait être dû au faible nombre de chiens, au fait que toutes les masses cérébrales ont été considérées comme un seul groupe lors de l'analyse statistique de ces paramètres, mais aussi à la variabilité des signes cliniques associés aux masses cérébrales, pouvant conduire à l'euthanasie, indépendamment de la réponse au traitement ou de l'agressivité de la tumeur.

#### Association entre la DMV et le pronostic

Dans l'*Étude IV*, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la DMV et la survie des chiens. Une DMV élevée a été corrélée à une meilleure réponse à la RT et à un meilleur contrôle local de la tumeur chez les humains atteints de carcinomes de la tête et du cou (Kamijo *et al.* 2000, Zhang *et al.* 2003).

En médecine vétérinaire, une DMV élevée a été associée à une plus forte malignité des tumeurs mammaires canines et à une incidence plus élevée de métastases ganglionnaires (Graham *et al.* 1999, Restucci *et al.* 2000). De la même manière, la DMV des carcinomes à cellules squameuses mal différenciés est plus élevée que celle des carcinomes bien différenciés de la peau chez les chiens, et les tumeurs mastocytaires cutanées canines présentant une DMV élevée étaient plus invasives, avaient un indice mitotique plus élevé et ont été associées à des TMS plus courts (Maiolino *et al.* 2001, Preziosi *et al.* 2004).

#### Autres résultats

Un résultat inattendu de l'*Étude I* est l'association négative entre le poids du chien et le BF et le BV des tumeurs nasales. Cette observation pourrait s'expliquer par le fait que les chiens de petite taille ont généralement des cavités nasales plus petites et peut-être des tumeurs plus petites. Les grosses tumeurs peuvent dépasser leurs capacités de néovascularisation et développer des zones hypo-perfusées et nécrotiques, diminuant ainsi les paramètres globaux de perfusion de la tumeur. Cette association pourrait également être la conséquence de différences techniques dans l'analyse de la perfusion entre les petits et les grands chiens, en particulier en termes de segmentation des vaisseaux pour la fonction d'entrée artérielle. L'effet de volume partiel peut avoir été plus important chez les petits chiens, diminuant de manière artificielle le BF et le BV chez cette catégorie de chiens.

Dans l'*Étude II* portant sur les masses intracrâniennes, les chiens les plus lourds ont présenté une survie plus courte, quelle que soit la localisation de la tumeur. Il n'y a pas de raison claire pour expliquer ce résultat, mais il se pourrait simplement que les chiens de grande taille présentant des signes cliniques neurologiques soient moins faciles à gérer par les propriétaires, et donc euthanasiés plus tôt dans l'évolution de la maladie. Il pourrait également s'agir d'un biais dû au petit nombre de chiens inclus.

## LIMITES

Notre travail présente certaines limites. Le nombre total de chiens recrutés était faible, notamment après répartition en fonction des localisations et des différentes catégories histologiques. Par ailleurs, l'obtention d'un diagnostic histologique précis peut s'avérer difficile avec des échantillons de tissus de petite taille provenant de biopsies, et certains des cas ont pu être mal classés histologiquement. En outre, nous n'avons pas réalisé d'analyse histologique des masses intracrâniennes. En utilisant uniquement les caractéristiques d'imagerie, il est souvent impossible de différencier un méningiome d'un sarcome histiocytaire, un adénome d'un carcinome hypophysaire, et les types et grades de gliomes (Pollard *et al.* 2010, Bentley *et al.* 2013, Wada *et al.* 2017). Malheureusement, une biopsie cérébrale nécessite un équipement et une expérience spécifiques et n'est pas pratiquée en routine en médecine vétérinaire, et les propriétaires refusent souvent l'autopsie. Une précision de 100 % de l'IRM a été décrite pour prédire la présence d'une tumeur cérébrale (Bentley *et al.* 2013), et de 70 à 96 % pour prédire le type de tumeur (Thomas *et al.* 1996, Rodenas *et al.* 2011). Cependant, plusieurs études dans la littérature vétérinaire rapportent que d'autres types de lésions telles que les accidents vasculaires cérébraux peuvent être confondus avec des gliomes à l'IRM (Cervera *et al.* 2010, Young *et al.* 2014). Par conséquent, le diagnostic de tumeur cérébrale reste présumé dans notre étude.

Les tumeurs incluses dans ce travail étaient de tailles, de types histologiques et de localisations variés, ce qui ajoute un biais important à l'analyse statistique. En ce qui concerne la taille des tumeurs, les tumeurs de grande taille peuvent développer des zones d'hypoperfusion, de nécrose ou de cavitation qui pourraient avoir diminué leur perfusion globale. Cependant, la corrélation entre la taille de la tumeur et les paramètres de perfusion n'est pas constante dans la littérature humaine, car de nombreux facteurs environnementaux interconnectés jouent un rôle dans la perfusion tumorale, telles que la pression du liquide interstitiel, la vitesse de croissance tumorale, la néo-angiogenèse et la DMV entre autres (Haider *et al.* 2005, Aoki *et al.* 2014, Chen *et al.* 2017).

Le nombre de chiens ayant reçu une RT et un DCECT de suivi était encore plus faible que la population totale, et bien que tous les plans de RT aient été similaires et effectués par le même radio-oncologue, la variété des traitements utilisés dans notre population a fortement biaisé notre analyse de survie. Des études supplémentaires portant sur un plus grand nombre de chiens et des traitements standardisés seraient intéressantes pour évaluer plus avant l'intérêt clinique potentiel des paramètres de perfusion chez les chiens atteints de tumeurs de la tête.

Certains chiens ont reçu des anti-inflammatoires avant le premier et le second DCECT, ou avant les deux ; d'autres n'ont pas reçu d'anti-inflammatoires. Les effets des médicaments anti-inflammatoires sur les paramètres de perfusion de la DCECT n'ont pas été étudiés, mais leur activité anti-cyclooxygénase a une action anti-angiogénique qui pourrait être responsable de modifications des paramètres de perfusion (Mander *et al.* 2018).

Le protocole de DCECT utilisé dans notre étude répond aux recommandations d'utilisation chez l'humain, à l'exception du débit d'injection de produit de contraste et de l'injection subséquente de sérum

physiologique. En effet, la taille limitée des cathéters entraînait une pression excessive lors de l'injection, empêchant de respecter le débit d'injection recommandé de 4 à 10 mL/s, et un débit de 3 mL/s a été utilisé dans notre étude (Petralia *et al.* 2010, Miles *et al.* 2012, Razek *et al.* 2014). Cependant, la petitesse des chiens par rapport aux êtres humains compense probablement cet écart.

La variabilité intra- et inter-observateur n'a pas été calculée dans notre travail, mais cela aurait été intéressant, notamment parce qu'elle représente le plus grand facteur de variabilité globale du DCECT (Ng *et al.* 2018). Une étude portant sur des tumeurs nasales et utilisant le même logiciel de perfusion que celui utilisé dans notre étude a révélé un coefficient de variation au sein d'un même patient allant de 22 % à 30 %, en raison de la variabilité de l'aire sous la courbe de la fonction d'entrée artérielle et de la variabilité de l'aire sous la courbe de la tumeur (La Fontaine *et al.* 2017). En revanche, la pression artérielle du patient n'a pas montré d'impact significatif sur l'analyse de la perfusion.

Enfin, seul le centre des masses de plus de 4 cm a été inclus dans l'analyse DCECT, et les parties de la tumeur proches des vaisseaux et des os ont également été exclues de l'entourage. Bien qu'inévitable, cela a pu modifier l'analyse de perfusion globale des masses, en particulier chez les chiens de petite taille.

## CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

En conclusion, notre travail a montré que les sarcomes de la tête présentaient un BV et BF plus faibles que les carcinomes (*Études I, III et IV*), mais que les carcinomes avaient un pourcentage de surface de vaisseaux sanguins déterminé histologiquement plus faible que les tumeurs mésoenchymateuses (*Étude IV*). Par ailleurs, les tumeurs épithéliales nasales ont tendance à présenter une diminution de volume en cours de RT, alors que les sarcomes nasaux ont tendance à croître (*Étude I*). Le TT était positivement associé à la survie dans une population de chiens présentant une tumeur de la tête (*Étude IV*). L'*Étude II* a montré une association entre la localisation des masses intracrâniennes et les valeurs des paramètres de perfusion initiaux (les masses extra-axiales ont des BF et BV plus élevés que les masses intra-axiales et hypophysaires) et pendant la RT (les tumeurs extra-axiales montrent une diminution plus importante des BF et BV que les tumeurs hypophysaires et intra-axiales), et entre la localisation des masses et la réduction de la taille pendant la RT (les tumeurs intra-axiales montrent une diminution plus importante de la taille que les tumeurs extra-axiales et hypophysaires).

Ces résultats s'ajoutent à la paucité des connaissances actuelles sur l'imagerie fonctionnelle des tumeurs chez le chien, et ouvrent la voie à une meilleure compréhension de la vascularisation et de la perfusion des tumeurs canines et de leurs implications sur le pronostic.

En termes de perspectives, chez l'homme, le DCECT a également été utilisé pour prédire le grade de la tumeur (Maarouf *et al.* 2015, Wang *et al.* 2016, Chen *et al.* 2017, Satheesh Kumar *et al.* 2017), définir les marges de la tumeur et détecter les récidives locales (Bisdas *et al.* 2007, Troeltzsch *et al.* 2020),

différencier les lésions bénignes des lésions malignes (Li *et al.* 2016, Thaiss *et al.* 2016), et détecter les métastases lymphatiques (Trojanowska *et al.* 2012). En particulier, le DCECT a été étudié sur de nombreux autres types tumoraux chez l'homme, tels que les tumeurs pulmonaires, les carcinomes hépatocellulaires, les tumeurs pancréatiques, les tumeurs rénales, les tumeurs colorectales et les tumeurs prostatiques et gynécologiques (Bellomi *et al.* 2010). La majorité de ces types tumoraux existent également chez le chien (et chez le chat), ouvrant un large champ d'application du DCECT en médecine vétérinaire.

Des études supplémentaires chez de plus larges populations de chiens pourrait être non seulement intéressantes dans le domaine de l'oncologie vétérinaire, mais également dans une perspective One Health, où le chien tient une place privilégiée en tant que modèle spontané de nombreuses tumeurs rencontrées chez les humains (Ranieri *et al.* 2013). De la même manière, l'étude de la perfusion tumorale des cancers félines serait informative dans la mesure où cette espèce représente un bon modèle humain de lymphome non-hodgkinien, de carcinome mammaire et de sarcome des tissus mous (Conn 2008).

Un autre champ de perspectives d'utilisation du DCECT est l'étude séquentielle de la perfusion tumorale lors du traitement, que nous avons effleuré dans cette étude. Il a été suggéré que les thérapies anti-angiogéniques pourraient corriger les défauts structurels et fonctionnels des vaisseaux sanguins de la tumeur, un processus appelé "normalisation vasculaire" (Jain 2001, Jain 2005). La normalisation de la vascularisation tumorale pourrait rétablir les fonctions correctes des vaisseaux sanguins et contribuer à empêcher les cellules cancéreuses d'acquérir un phénotype agressif associé à un microenvironnement hypoxique (Jain 2014). En outre, une perfusion accrue de la tumeur augmenterait les bénéfices des médicaments chimiothérapeutiques et de la RT (Goel *et al.* 2012). Le DCECT pourrait être une technique efficace pour étudier les modifications temporelles de la perfusion tumorale en cours de traitements, dans un but non seulement de recherche fondamentale et pré-clinique, mais également pour une approche individuelle si des modifications spécifiques s'avèrent pronostiques de la réponse au traitement.

---

# Bibliographie

---

- 
- Abma E, Stock E, De Spiegelaere W, et al. Power Doppler ultrasound and contrast-enhanced ultrasound demonstrate non-invasive tumour vascular response to anti-vascular therapy in canine cancer patients. *Sci Rep*. 2019;9:1–12.
- Abramyuk A, Hietschold V, Appold S, von Kummer R, Abolmaali N. Radiochemotherapy-induced changes of tumour vascularity and blood supply estimated by dynamic contrast-enhanced CT and fractal analysis in malignant head and neck tumours. *Br J Radiol*. 2015;88(1045).
- Adams WM, Bjorling DE, McAnulty JF, Green EM, Forrest LJ, Vail DM. Outcome of accelerated radiotherapy alone or accelerated radiotherapy followed by exenteration of the nasal cavity in dogs with intranasal neoplasia: 53 cases (1990-2002). *J Am Vet Med Assoc [Internet]*. 2005 Sep;227:936–941.
- Adams WM, Kleiter MM, Thrall DE, Klauer JM, Forrest LJ, La Due TA, et al. Prognostic significance of tumor histology and computed tomographic staging for radiation treatment response of canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2009 May;50(3):330–5.
- Adams WM, Miller PE, Vail DM, Forrest LJ, MacEwen EG. An accelerated technique for irradiation of malignant K9 nasal & paranasal sinus tumors. *Vet Radiol US*. 1998;39:475–481.
- Agthe P, Caine AR, Gear RNA, Dobson JM, Richardson KJ, Herrtage ME. Prognostic significance of specific magnetic resonance imaging features in canine nasal tumours treated by radiotherapy. *J Small Anim Pract [Internet]*. 2009 Dec;50:641–648.
- Ahmad N, Shaukat A, Rehan A, Rashid S. Diagnostic accuracy of perfusion computed tomography in cerebral glioma grading. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2016;26(7):562-565.
- Alfarouk KO, Ibrahim ME, Gatenby RA, Brown JS. Riparian ecosystems in human cancers. *Evol Appl*. 2013;6: 46–53.
- Ali H, Al-sarraf M. Chemotherapy in advanced nasopharyngeal cancer [Internet]. 2000. Available from: <https://www.cancernetwork.com/oncology-journal/chemotherapy-advanced-nasopharyngeal-cancer>
- Almela R, Ansón A. A review of immunotherapeutic strategies in canine malignant melanoma. *Vet Sci [Internet]*. 2019 Feb 12;6:15.
- Amory JT, Reetz JA, Sánchez MD, et al. 2014. Computed tomographic characteristics of odontogenic neoplasms in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2014;55:147-158. doi.org/10.1111/vru.12101

- 
- Anwer CC, Vernau KM, Higgins RJ, et al. Magnetic Resonance Imaging Features of Intracranial Granular Cell Tumors in Six Dogs. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2013;54:271–277.
  - Aoki M, Takai Y, Narita Y, et al. Correlation between tumor size and blood volume in lung tumors: A prospective study on dual-energy gemstone spectral CT imaging. *J Radiat Res*. 2014;55:917–923.
  - Ash L, Teknos TN, Gandhi D, Patel S, Mukherji SK. Head and neck squamous cell carcinoma: CT perfusion can help noninvasively predict intratumoral microvessel density. *Radiology*. 2009;251(2):422-428.
  - Avner A, Dobson JM, Sales JI, Herrtage ME. Retrospective review of 50 canine nasal tumours evaluated by low-field magnetic resonance imaging. *J Small Anim Pract* [Internet]. 2008 May;49:233–243.
  - Axlund TW, McGlasson ML, Smith AN. Surgery alone or in combination with radiation therapy for treatment of intracranial meningiomas in dogs: 31 Cases (1989-2002). *J Am Vet Med Assoc*. 2002;221(11):1597-1600.
  - Baja AJ, Kelsey KL, Ruslander DM, Gieger TL, Nolan MW. A retrospective study of 101 dogs with oral melanoma treated with a weekly or biweekly 6 Gy × 6 radiotherapy protocol. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2022 Sep 3;20:623–631.
  - Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):1-7.
  - Banzato T, Bernardini M, Cherubini GB, Zotti A. Texture analysis of magnetic resonance images to predict histologic grade of meningiomas in dogs. *Am J Vet Res* [Internet]. 2017 Oct;78:1156–1162.
  - Banzato T, Bernardini M, Cherubini GB, Zotti A. A methodological approach for deep learning to distinguish between meningiomas and gliomas on canine MR-images. *BMC Vet Res* [Internet]. *BMC Veterinary Research*; 2018;14:317.
  - Barge P, Oevermann A, Maiolini A, Durand A. Machine learning predicts histologic type and grade of canine gliomas based on MRI texture analysis. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2023 Jul 3;64:724–732.
  - Barker HE, Paget JTE, Khan AA, Harrington, K. J. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nature Reviews Cancer*; 2015;15(7):409–425.

- 
- Bashari WA, Senanayake R, Fernández-Pombo A, et al. Modern imaging of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(2).
  - Baskar R, Dai J, Wenlong N, Yeo R, Yeoh KW. Biological response of cancer cells to radiation treatment. *Front Mol Biosci.* 2014;1:1-9.
  - Baujat B, Bourhis J, Blanchard P, et al. Hyperfractionated or accelerated radiotherapy for head and neck cancer. *Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 2010 Dec 8;2010.
  - Bellomi M, Viotti S, Preda L, D'Andrea G, Bonello L, Petralia G. Perfusion CT in solid body-tumours part II. Clinical applications and future development. *Radiol Med.* 2010;115(6):858-874.
  - Belluco S, Marano G, Baiker K, et al. Standardisation of canine meningioma grading: Inter-observer agreement and recommendations for reproducible histopathologic criteria. *Vet Comp Oncol.* 2022;20:509–520.
  - Belshaw Z, Constantio-Casas F, Brearley MJ, Dunning MD, Holmes MA, Dobson JM. COX-2 expression and outcome in canine nasal carcinomas treated with hypofractionated radiotherapy\*†. *Vet Comp Oncol [Internet].* 2011 Jun;9:141–148.
  - Bentley RT, Burcham GN, Heng HG, et al. A comparison of clinical, magnetic resonance imaging and pathological findings in dogs with gliomatosis cerebri, focusing on cases with minimal magnetic resonance imaging changes ‡. *Vet Comp Oncol [Internet].* 2016 Sep;14:318–330.
  - Bentley RT, Ober CP, Anderson KL, et al. Canine intracranial gliomas: Relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. *Vet J.* 2013;198(2):463-471.
  - Beppu T, Sasaki M, Kudo K, et al. Prediction of malignancy grading using computed tomography perfusion imaging in nonenhancing supratentorial gliomas. *J Neurooncol.* 2011;103(3):619-627.
  - Bergsjom P. Radiation-induced early changes in size and vascularity of cervical carcinoma. *Acta Radiol* 1967; Suppl 274:7.
  - Berlato D, Zwingenberger AL, Ruiz-Drebing M, Pradel J, Clark N, Kent MS. Canine meningiomas treated with three-dimensional conformal radiation therapy require magnetic resonance imaging to avoid a geographic miss. *Vet Radiol Ultrasound.* 2018;(April):777-785.
  - Bisdas S, Nguyen SA, Anand SK, Glavina G, Day T, Rumboldt Z. Outcome Prediction After Surgery and Chemoradiation of Squamous Cell Carcinoma in the Oral Cavity, Oropharynx, and

- Hypopharynx: Use of Baseline Perfusion CT Microcirculatory Parameters vs. Tumor Volume. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009;73(5):1313–8.
- Bisdas S, Rumboldt Z, Surlan-Popovic K, Baghi M, Koh TS, Vogl TJ, et al. Perfusion CT in squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: long-term predictive value of baseline perfusion CT measurements. *Am J Neuroradiol*. 2010;31(3):576–81.
  - Bisdas S, Baghi M, Smolarz A, et al. Quantitative measurements of perfusion and permeability of oropharyngeal and oral cavity cancer, recurrent disease, and associated lymph nodes using first-pass contrast-enhanced computed tomography studies. *Invest Radiol [Internet]*. 2007 Mar;42:172–179.
  - Bommarito DA, Kent MS, Selting KA, Henry CJ, Lattimer JC. Reirradiation of recurrent canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound [Internet]*. 2011 Mar;52:207–212.
  - Bonfanti U, Bertazzolo W, Gracis M, et al. Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: A prospective study on 114 cases. *Vet J [Internet]*. Elsevier Ltd; 2015;205:322–327.
  - Boria PA, Murry DJ, Bennett PF, et al. Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2004;224:388–394.
  - Boston SE, Lu X, Culp WTN, et al. Efficacy of systemic adjuvant therapies administered to dogs after excision of oral malignant melanomas: 151 cases (2001–2012). *J Am Vet Med Assoc [Internet]*. 2014 Aug 15;245:401–407.
  - Boucher Y, Salehi H, Witwer B, Harsh G, Jain R. Interstitial fluid pressure in intracranial tumours in patients and in rodents. *Br J Cancer [Internet]*. 1997 Mar;75:829–836.
  - Bowles K, DeSandre-Robinson D, Kubicek L, Lurie D, Milner R, Boston SE. Outcome of definitive fractionated radiation followed by exenteration of the nasal cavity in dogs with sinonasal neoplasia: 16 cases. *Vet Comp Oncol [Internet]*. 2016 Dec;14:350–360.
  - Brearley MJ, Jeffery ND, Phillips SM, Dennis R. Hypofractionated radiation therapy of brain masses in dogs: a retrospective analysis of survival of 83 cases (1991-1996). *J Vet Intern Med*. 1999;13(5):408-412.
  - Brizel DM, Sibley GS, Prosnitz LR, Scher RL, Dewhirst MW. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1997;38(2):285-289.

- 
- Brockley LK, Cooper MA, Bennett PF. Malignant melanoma in 63 dogs (2001-2011): The effect of carboplatin chemotherapy on survival. *N Z Vet J*. 2013;61:25–31.
  - Brown JM, Koong AC. High-dose single-fraction radiotherapy: Exploiting a new biology? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71:324–5.
  - Buchholz J, Hagen R, Leo C, Ebling A, Roos M, Kaser-Hotz B, et al. 3D conformal radiation therapy for palliative treatment of canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2009 Nov;50(6):679–83.
  - Bull I, Ziener ML, Storli SH, Arendt ML. Quality of life after partial mandibulectomy or maxillectomy in 45 dogs with oral tumors. *J Vet Dent [Internet]*. SAGE Publications Inc; 2023 Dec 27;40:329–337.
  - Burgess KE, Green EM, Wood RD, Dubielzig RR. Angiofibroma of the nasal cavity in 13 dogs. *Vet Comp Oncol*. 2011;9:304–309.
  - Busk M, Horsman MR. Relevance of hypoxia in radiation oncology: pathophysiology, tumor biology and implications for treatment. *Q J Nucl Med Mol Imaging [Internet]*. 2013;57:219–234.
  - Camp S, Fisher P, Thrall DE. Dynamic ct measurement of contrast medium washin kinetics in canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2000 Sep;41(5):403–8.
  - Cancedda S, Sabattini S, Bettini G, et al. Combination of radiation therapy and firocoxib for the treatment of canine nasal carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound [Internet]*. 2015 May;56:335–343.
  - Carozzi G, Zotti A, Alberti M, Rossi F. Computed tomographic features of pharyngeal neoplasia in 25 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2015;56:628–637.
  - Carrera I, Richter H, Beckmann K, Meier D, Dennler M, Kircher PR. Evaluation of intracranial neoplasia and noninfectious meningoencephalitis in dogs by use of short echo time, single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3.0 Tesla. *Am J Vet Res [Internet]*. 2016 May;77:452–462.
  - Carroll KA, Kuntz CA, Heller J, Peters A, Rotne R, Dunn A. Tumor size as a predictor of lymphatic invasion in oral melanomas of dogs. *J Am Vet Med Assoc [Internet]*. 2020 May 15;256:1123–1128.
  - Carter GL, Ogilvie GK, Mohammadian LA, Bergman PJ, Lee RP, Proulx DR. CyberKnife stereotactic radiotherapy for treatment of primary intracranial tumors in dogs. *J Vet Intern Med*. 2021;35(3):1480-1486.

- 
- Cervera V, Mai W, Vite CH, Johnson V, Dayrell-Hart B, Seiler GS. Comparative magnetic resonance imaging findings between gliomas and presumed cerebrovascular accidents in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2010;52(1):no-no.
  - Chen FH, Chiang CS, Wang CC, Tsai CS, Jung SM, Lee CC, et al. Radiotherapy decreases vascular density and causes hypoxia with macrophage aggregation in TRAMP-C1 prostate tumors. *Clin Cancer Res* 2009; 15:1721–9.
  - Chen C, Kang Q, Wei Q, Xu B, Ye H, Wang T, et al. Correlation between CT perfusion parameters and Fuhrman grade in pT1b renal cell carcinoma. *Abdom Radiol*. 2017;42(5):1464–71.
  - Cherubini GB, Mantis P, Martinez T a., Lamb CR, Cappello R. Utility of magnetic resonance imaging for distinguishing neoplastic from non-neoplastic brain lesions in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound*. 2005;46:384–387.
  - Ciekot PA, Powers BE, Withrow SJ, Straw RC, Ogilvie GK, LaRue SM. Histologically low-grade, yet biologically high-grade, fibrosarcomas of the mandible and maxilla in dogs: 25 cases (1982-1991). *J Am Vet Med Assoc*. 1994;204:610–615.
  - Clemente CG, Mihm MCJr, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer*. 1996;77:1303–1310.
  - Clemente M, Sánchez-Archidona AR, Sardón D, et al. Different role of COX-2 and angiogenesis in canine inflammatory and non-inflammatory mammary cancer. *Vet J [Internet]*. Elsevier Ltd; 2013;197:427–432.
  - Cohn LA. Canine nasal disease. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract [Internet]*. Elsevier Inc; 2014;44:75–89.
  - Conn PM. *Sourcebook of Models for Biomedical Research*. (Conn PM, ed.). Humana Press; 2008.
  - Coomber BL, Denton J, Sylvestre A, Kruth S. Blood vessel density in canine osteosarcoma. *Can J Vet Res*. 1998;62(3):199-204.
  - Correa SS, Mauldin GNE, Mauldin GNE, Patnaik AK. Efficacy of cobalt-60 radiation therapy for the treatment of nasal cavity nonkeratinizing squamous cell carcinoma in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc [Internet]*. 2003 Jan;39:86–89.

- 
- Cosse J-P, Michiels C. Tumour hypoxia affects the responsiveness of cancer cells to chemotherapy and promotes cancer progression. *Anticancer Agents Med Chem*. 2012;8:790–797.
  - Costa C, Incio J, Soares R. Angiogenesis and chronic inflammation: cause or consequence? *Angiogenesis*. 2007;10:149–166.
  - Coyle VJ, Rassnick KM, Borst LB, et al. Biological behaviour of canine mandibular osteosarcoma. A retrospective study of 50 cases (1999-2007). *Vet Comp Oncol*. 2015;13(2):89-97.
  - Cray M, Selmic LE, Kindra C, et al. Analysis of risk factors associated with complications following mandibulectomy and maxillectomy in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2021;259(3):265-274.
  - Curvo-Semedo L, Portilha MA, Ruivo C, Borrego M, Leite JS, Caseiro-Alves F. Usefulness of perfusion ct to assess response to neoadjuvant combined chemoradiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer. *Acad Radiol*. 2012;19(2):203-213.
  - Cuenod CAA, Balvay D. Perfusion and vascular permeability: Basic concepts and measurement in DCE-CT and DCE-MRI. *Diagn Interv Imaging*. 2013 Dec;94(12):1187–204.
  - Cuenod CA, Fournier L, Balvay D, Guinebretière JM. Tumor angiogenesis: Pathophysiology and implications for contrast-enhanced MRI and CT assessment. *Abdom Imaging*. 2006;31:188–193.
  - Czichon F, Rohrer Bley C, Meier V. Relative tumor volume has prognostic relevance in canine sinonasal tumors treated with radiation therapy: A retrospective study. Thamm DH (ed): *PLoS One* [Internet]. 2022 May 27;17:e0269083.
  - d'Assignies G, Couvelard A, Bahrami S, et al. Pancreatic endocrine tumors: tumor blood flow assessed with perfusion CT reflects angiogenesis and correlates with prognostic factors. *Radiology*. 2009;250(2):407-416.
  - Dank G, Rassnick KM, Sokolovsky Y, et al. Use of adjuvant carboplatin for treatment of dogs with oral malignant melanoma following surgical excision. *Vet Comp Oncol*. 2014;12:78–84.
  - Davies O, Spencer S, Necova S, et al. Intranasal melanoma treated with radiation therapy in three dogs. *Vet Q* [Internet]. Taylor & Francis; 2017 Jan 10;37:274–281.
  - de Fornel P, Delisle F, Devauchelle P, Rosenberg D. Effects of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumors in dogs: a retrospective study of 12 cases. *Can Vet J = La Rev Vet Can* [Internet]. 2007 May;48:481–486.

- 
- de Mello Souza CH, Bacon N, Boston S, Randall V, Wavreille V, Skinner O. Ventral mandibulectomy for removal of oral tumours in the dog: Surgical technique and results in 19 cases. *Vet Comp Oncol*. 2019;17:271–275.
- De Vos JP, Burm AGD, Focker AP, Boschloo H, Karsijns M, Van Der Waal I. Piroxicam and carboplatin as a combination treatment of canine oral non-tonsillar squamous cell carcinoma: a pilot study and a literature review of a canine model of human head and neck squamous cell carcinoma. *Vet Comp Oncol*. 2005;3:16–24.
- de Vos J, Ramos Vega S, Noorman E, de Vos P. Primary frontal sinus squamous cell carcinoma in three dogs treated with piroxicam combined with carboplatin or toceranib. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2012 Sep;10:206–213.
- Debreuque M, de Fornel P, David I, et al. Definitive-intent uniform megavoltage fractionated radiotherapy protocol for presumed canine intracranial gliomas: retrospective analysis of survival and prognostic factors in 38 cases (2013–2019). *BMC Vet Res*. 2020;16(1):412.
- Dickerson ME, Page RL, LaDue TA, et al. Retrospective analysis of axial skeleton osteosarcoma in 22 large-breed dogs. *J Vet Intern Med* [Internet]. 2001 Mar;15:120–124.
- Dolera M, Malfassi L, Bianchi C, et al. Frameless stereotactic radiotherapy alone and combined with temozolomide for presumed canine gliomas. *Vet Comp Oncol*. 2018;16(1):90-101.
- Drees R, Forrest LJ, Chappell R. Comparison of computed tomography and magnetic resonance imaging for the evaluation of canine intranasal neoplasia. *J Small Anim Pract*. 2009;50:334–340.
- Dunfield EM, Turek MM, Buhr KA, Christensen NC. A survey of stereotactic radiation therapy in veterinary medicine. *Vet Radiol Ultrasound*. 2018;786–795.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* [Internet]. Elsevier Ltd; 2009;45:228–247.
- Ellika SK, Jain R, Patel SC, et al. Role of perfusion CT in glioma grading and comparison with conventional MR imaging features. *Am J Neuroradiol*. 2007;28:1981–1987.
- Esplin DG. Survival of dogs following surgical excision of histologically well-differentiated melanocytic neoplasms of the mucous membranes of the lips and oral cavity. *Vet Pathol* [Internet]. 2008 Nov 1;45:889–896.

- 
- Evans SM, Shofer F. Canine oral nontonsillar squamous cell carcinoma. *Vet Radiol.* 1988;29:133–137.
- Fan VC, Mayer MN, Sukut SL, Gustafson NR, Mauldin GN, Waldner CL. Retrospective survey of owners' experiences with palliative radiation therapy for pets. *J Am Vet Med Assoc.* 2018 Aug;253(3):307–14.
- Fanelli M, Locopo N, Gattuso D, Gasparini G. Assessment of tumor vascularization: immunohistochemical and non-invasive methods. *Int j biol markers* [Internet]. 1999 Oct 13;14:218–231.
- Farcas N, Arzi B, Verstraete FJM. Oral and maxillofacial osteosarcoma in dogs: A review. *Vet Comp Oncol.* 2014;12:169–180.
- Fiani N, Arzi B, Johnson EG, Murphy B, Verstraete FJM. Osteoma of the oral and maxillofacial regions in cats: 7 cases (1999-2009). *J Am Vet Med Assoc.* 2011;238:1470–1475.
- Finck M, Durand A, Hammond G, Sullivan M, King A. Evaluation of the ventro 20° rostral-dorsocaudal oblique radiographic projection for the investigation of canine nasal disease. *J Small Anim Pract* [Internet]. 2015;56:491–498.
- Forward AK, Volk HA, Cherubini GB, et al. Clinical presentation, diagnostic findings and outcome of dogs undergoing surgical resection for intracranial meningioma: 101 dogs. *BMC Vet Res* [Internet]. *BioMed Central*; 2022;18:1–10.
- Foster ES, Carrillo JM, Patnaik AK. Clinical signs of tumors affecting the rostral cerebrum in 43 dogs. *J Vet Intern Med.* 1988;2(2):71-74.
- Fox-Alvarez S, Shiomitsu K, Lejeune AT, Szivek A, Kubicek L. Outcome of intensity-modulated radiation therapy-based stereotactic radiation therapy for treatment of canine nasal carcinomas. *Vet Rad Ultrasound.* 2020 May 18;61(3):370–8.
- Frazier SA, Johns SM, Ortega J, et al. Outcome in dogs with surgically resected oral fibrosarcoma (1997-2008)\*. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2012 Mar;10:33–43.
- Freeman KP, Hahn KA, Harris FD, King GK. Treatment of dogs with oral melanoma by hypofractionated radiation therapy and platinum-based chemotherapy (1987-1997). *J Vet Intern Med.* 2003;17:96–101.

- 
- Frew DG, Dobson JM. Radiological assessment of 50 cases of incisive or maxillary neoplasia in the dog. *J Small Anim Pract* [Internet]. 1992;33:11–18.
- Fujiwara A, Kobayashi T, Kazato Y, Yayoshi N, Fujita M. Efficacy of hypofractionated radiotherapy for nasal tumours in 38 dogs (2005-2008). *J Small Anim Pract* [Internet]. 2013 Feb;54:80–86.
- Fulton AJ, Nemec A, Murphy BG, Kass PH, Verstraete FJM. Risk factors associated with survival in dogs with nontonsillar oral squamous cell carcinoma 31 cases (1990–2010). *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 2013 Sep 1;243:696–702.
- Gardner H, Fidel J, Halderson G, Dernell W, Wheeler B. Canine oral fibrosarcomas: a retrospective analysis of 65 cases (1998-2010). *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2015 Mar;13:40–47.
- Galloway A, Lana S, Thamm D, Boss K. Outcome and metastatic behavior of canine sinonasal osteosarcoma (2005–2015). *J Am Anim Hosp Assoc*. 2020 Mar;56(2):98–105.
- Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Page's C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006;313:1960–1964.
- García-Figueiras R, Goh VJ, Padhani AR, Baleato-González S, Garrido M, León L, et al. CT Perfusion in Oncologic Imaging: A Useful Tool? *Am J Roentgenol*. 2013 Jan;200(1):8–19.
- Garcia Mora JK, Robertson J, Hsu F, et al. Comparison of linear and volumetric criteria for the determination of therapeutic response in dogs with intracranial gliomas. *J Vet Intern Med*. 2022;36(3):1066-1074.
- George R, Smith A, Schleis S, et al. Outcome of dogs with intranasal lymphoma treated with various radiation and chemotherapy protocols: 24 cases. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2016 May;57:306–312.
- Ghirelli CO, Villamizar LA, Pinto ACBCF. Comparison of standard radiography and computed tomography in 21 dogs with maxillary masses. *J Vet Dent*. 2013;30:72–76.
- Gibbs C, Lane JG, Denny HR. Radiological features of intra-nasal lesions in the dog: a review of 100 cases. *J Small Anim Pract*. 1979;20:515–535.
- Gieger TL, Nolan MW. Linac-based stereotactic radiation therapy for canine non-lymphomatous nasal tumours: 29 cases (2013-2016). *Vet Comp Oncol*. 2018 Mar;16(1):68–75.

- 
- Gieger TL, Nolan MW. Treatment outcomes and target delineation utilizing CT and MRI in 13 dogs treated with a uniform stereotactic radiation therapy protocol (16 Gy single fraction) for pituitary masses: (2014-2017). *Vet Comp Oncol*. 2021;19:17–24.
  - Gieger T, Rassnick K, Siegel S, et al. Palliation of clinical signs in 48 dogs with nasal carcinomas treated with coarse-fraction radiation therapy. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2008;44:116–123.
  - Gieger T, Siegel S, Rosen K, et al. Reirradiation of Canine Nasal Carcinomas Treated with Coarsely Fractionated Radiation Protocols: 37 Cases. *J Am Anim Hosp Assoc* [Internet]. 2013 Sep;49:318–324.
  - Gielen I, Kromhout K, Gavin P, Van Ham L, Polis I, van Bree H. Agreement between low-field MRI and CT for the detection of suspected intracranial lesions in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 2013;243:367–375.
  - Gillies RJ, Verduzco D, Gatenby RA. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. *Nat Rev Cancer*. 2012;12:487–493.
  - Giuliano A, Dobson J. Prospective clinical trial of masitinib mesylate treatment for advanced stage III and IV canine malignant melanoma. *J Small Anim Pract*. 2020;61:190–194.
  - Glasser SA, Charney S, Dervisis NG, Witten MR, Ettinger S, Berg J, et al. Use of an image-guided robotic radiosurgery system for the treatment of canine nonlymphomatous nasal tumors. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2014 Mar;50(2):96–104.
  - Goel S, Duda DG, Xu L, et al. Normalization of the Vasculature for Treatment of cancer and other diseases. *Physiol Rev*. 2012;91:1071–1121.
  - Goh V, Halligan S, Daley F, Wellsted DM, Guenther T, Bartram CI. Colorectal tumor vascularity: quantitative assessment with multidetector CT - Do tumor perfusion measurements reflect angiogenesis? *Radiology*. 2008;249(2):510-517.
  - Goldschmidt S, Stewart N, Ober C, et al. Contrast-enhanced and indirect computed tomography lymphangiography accurately identifies the cervical lymphocenter at risk for metastasis in pet dogs with spontaneously occurring oral neoplasia. Attia S (ed): *PLoS One* [Internet]. 2023 Mar 2;18:e0282500.
  - Gutiérrez AN, Deveau M, Forrest LJ, Tomé WA, Mackie TR. Radiobiological and treatment planning study of a simultaneously integrated boost for canine nasal tumors using helical tomotherapy. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2007 Nov;48:594–602.

- 
- Graham JC, Myers RK. The prognostic significance of angiogenesis in canine mammary tumors. *J vet intern med.* 1999;13(5):416-418.
  - Gramer I, Killick D, Scase T, Chandry D, Marrington M, Blackwood L. Expression of VEGFR and PDGFR- $\alpha$ / $\beta$  in 187 canine nasal carcinomas. *Vet Comp Oncol.* 2017;15:1041–1050.
  - Greco JJ, Aiken SA, Berg JM, Monette S, Bergman PJ. Evaluation of intracranial meningioma resection with a surgical aspirator in dogs: 17 Cases (1996-2004). *J Am Vet Med Assoc.* 2006;229:394–400.
  - Greene-Schloesser D, Robbins ME, Peiffer AM, Shaw EG, Wheeler KT, Chan MD. Radiation-induced brain injury: A review. *Front Oncol [Internet].* 2012;2:1–18.
  - Grier CK, Mayer MN. Radiation therapy of canine nontonsillar squamous cell carcinoma. *Can Vet J.* 2007;48:1189–1191.
  - Griffin L, Frank CB, Seguin B. Pilot study to evaluate the efficacy of lymphotropic nanoparticle enhanced MRI for diagnosis of metastatic disease in canine head and neck tumours. *Vet Comp Oncol [Internet].* 2020 Jun 15;18:176–183.
  - Griffin LR, Nolan MW, Selmic LE, Randall E, Custis J, LaRue S. Stereotactic radiation therapy for treatment of canine intracranial meningiomas. *Vet Comp Oncol.* 2016;14(4):e158-e170.
  - Griffith B, Jain R. Perfusion Imaging in Neuro-Oncology: Basic Techniques and Clinical Applications. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* 2016;24:765–779.
  - Grimes JA, Secrest SA, Northrup NC, Saba CF, Schmiedt CW. Indirect computed tomography lymphangiography with aqueous contrast for evaluation of sentinel lymph nodes in dogs with tumors of the head. *Vet Radiol Ultrasound [Internet].* 2017 Sep;58:559–564.
  - Groothuis DR, Lapin GD, Vriesendorp FJ, Mikhael MA, Patlak CS. A method to quantitatively measure transcapillary transport of iodinated compounds in canine brain tumors with computed tomography. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1991;11(6):939–48.
  - Grosenbaugh DA, Leard AT, Bergman PJ, et al. Safety and efficacy of a xenogeneic DNA vaccine encoding for human tyrosinase as adjunctive treatment for oral malignant melanoma in dogs following surgical excision of the primary tumor. *Am J Vet Res.* 2011;72:1631–1638.
  - Gumpel E, Moore AS, Simpson DJ, Hoffmann KL, Taylor DP. Long-term control of olfactory neuroblastoma in a dog treated with surgery and radiation therapy. *Aust Vet J.* 2017;95:227–231.

- 
- Haas RL, van Beek S, Betgen A, Ali S, Schneider CJ, Diddens FH, et al. Substantial volume changes and plan adaptations during preoperative radiation therapy in extremity soft tissue sarcoma patients. *Pract Radiat Oncol*. 2019;9(2):115–22.
- Hahn KA, Knapp DW, Richardson RC, Matlock CL. Clinical response of nasal adenocarcinoma to cisplatin chemotherapy in 11 dogs. *J Am Vet Med Assoc*. United States; 1992 Feb;200:355–357.
- Haider MA, Milosevic M, Fyles A, et al. Assessment of the tumor microenvironment in cervix cancer using dynamic contrast enhanced CT, interstitial fluid pressure and oxygen measurements. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005;62:1100-1107.
- Hakyemez B, Yildirim N, Erdoğan C, Kocaeli H, Korfali E, Parlak M. Meningiomas with conventional MRI findings resembling intraaxial tumors: Can perfusion-weighted MRI be helpful in differentiation? *Neuroradiology*. 2006;48(10):695-702.
- Hansen AE, Kristensen AT, Law I, McEvoy FJ, Kjær A, Engelholm SA. Multimodality functional imaging of spontaneous canine tumors using <sup>64</sup>Cu-ATSM and <sup>18</sup>F-FDG PET/CT and dynamic contrast enhanced perfusion CT. *Radiother Oncol*. 2012 Mar;102(3):424–8.
- Hansen KS, Zwingenberger AL, Théon AP, Kent MS. Long-term survival with stereotactic radiotherapy for imaging-diagnosed pituitary tumors in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2019;60(2):219-232.
- Hanson JM, Teske E, Voorhout G, Galac S, Kooistra HS, Meij BP. Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Neurosurg [Internet]*. 2007 Oct;107:830–840.
- Hara Y. Transsphenoidal surgery in canines: safety, efficacy and patient selection. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2020;Volume 11:1-14.
- Harris BJ, Lourenço BN, Dobson JM, Herrtage ME. Diagnostic accuracy of three biopsy techniques in 117 dogs with intra-nasal neoplasia. *J Small Anim Pract*. 2014;55:219–224.
- Henry CJ, Brewer WG, Tyler JW, et al. Survival in dogs with nasal adenocarcinoma: 64 cases (1981-1995). *J Vet Intern Med*. 1998;12:436–439.
- Hermans R, Meijerink M, van den Bogaert W, Rijnders A, Weltens C, Lambin P. Tumor perfusion rate determined noninvasively by dynamic computed tomography predicts outcome in head-and-neck cancer after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003;57(5):1351–6.

- 
- Hiebl B, Krüger-Genge A, Jung F, editors. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2020 Oct 30;76(2):171–7.
  - Hillman LA, Garrett LD, de Lorimier L-P, Charney SC, Borst LB, Fan TM. Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 2010 Oct 15;237:936–942.
  - Hirata E, Sahai E. Tumor microenvironment and differential responses to therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017;7(7):1–14.
  - Hoffman JM, Lourenço BN, Promislow DEL, Creevy KE. Canine hyperadrenocorticism associations with signalment, selected comorbidities and mortality within North American veterinary teaching hospitals. *J Small Anim Pract*. 2018;59:681–690.
  - Hoyt RF. Oral malignancy in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1984;20:83–92.
  - Hu H, Barker A, Harcourt-Brown T, Jeffery N. Systematic review of brain tumor treatment in dogs. *J Vet Intern Med*. 2015;29(6):1456-1463.
  - Hunley DW, Neal Mauldin G, Shiomitsu K, Mauldin GE. Clinical outcome in dogs with nasal tumors treated with intensity-modulated radiation therapy. *Can Vet J*. 2010;51:295–300.
  - Ishikawa C, Ito D, Kitagawa M, Watari T. Comparison of conventional magnetic resonance imaging and nonenhanced three dimensional time-of-flight magnetic resonance angiography findings between dogs with meningioma and dogs with intracranial histiocytic sarcoma: 19 cases (2010–2014). *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 2016 May 15;248:1139–1147.
  - Jackson JR, Seed MP, Kircher CH, Willoughby DA, Winkler JD. The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *FASEB J*. 1997;11:457–465.
  - Jain RK. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: A new paradigm for combination therapy. *Nat Med* [Internet]. 2001 Sep 7;7:987–989.
  - Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med* 2003; 9:685–93.
  - Jain RK. Normalization of Tumor Vasculature: An Emerging Concept in Antiangiogenic Therapy. *Science* (80- ) [Internet]. 2005 Jan 7;307:58–62.
  - Jain R. Perfusion CT imaging of brain tumors: an overview. *Am J Neuroradiol* [Internet]. 2011;32:1570–1577.

- 
- Jain RK. Antiangiogenesis strategies revisited: from starving tumors to alleviating hypoxia. *Cancer Cell* [Internet]. Elsevier Inc.; 2014 Nov;26:605–622.
  - Jain RK, di Tomaso E, Duda DG, Loeffler JS, Sorensen AG, Batchelor TT. Angiogenesis in brain tumours. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2007 Aug;8:610–622.
  - Jain R, Ellika S, Lehman NL, et al. Can permeability measurements add to blood volume measurements in differentiating tumefactive demyelinating lesions from high grade gliomas using perfusion CT? *J Neurooncol* [Internet]. 2010 May 15;97:383–388.
  - Jain RK, Martin JD, Stylianopoulos T. The role of mechanical forces in tumor growth and therapy. *Annu Rev Biomed Eng* [Internet]. 2014 Jul 11;16:321–346.
  - Jain R, Narang J, Griffith B, et al. Prognostic vascular imaging biomarkers in high-grade gliomas. Tumor permeability as an adjunct to blood volume estimates. *Acad Radiol*. 2013;20(4):478-485.
  - Jania R, Boudreaux B, Langohr I, Looper J, Rademacher N. Computed tomography imaging characteristics of canine nasal chondrosarcoma. *J Small Anim Pract* [Internet]. 2019 Nov 27;60:678–682.
  - Janssen MA, Aerts HJ, Kierkels RG, Backes WH, Ollers MC, Buijsen J, et al. Tumor perfusion increases during hypofractionated short-course radiotherapy in rectal cancer: sequential perfusion-CT findings. *Radiother Oncol* 2010; 94:156–60.
  - Jiang T, Kambadakone A, Kulkarni NM, Zhu AX, Sahani D V. Monitoring response to antiangiogenic treatment and predicting outcomes in advanced hepatocellular carcinoma using image biomarkers, CT perfusion, tumor density, and tumor size (RECIST). *Invest Radiol*. 2012;47(1).
  - Johnson DE, Burtness B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2020 Nov 26;6:92.
  - Johnson PJ, Elders R, Pey P, Dennis R. Clinical and magnetic resonance imaging features of inflammatory versus neoplastic medial retropharyngeal lymph node mass lesions in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2016 Jan;57:24–32.
  - Jordan BF, Sonveaux P. Targeting tumor perfusion and oxygenation to improve the outcome of anticancer therapy. *Front Pharmacol* [Internet]. 2012;3:1–15.
  - José-López R, Gutierrez-Quintana R, Fuente C, et al. Clinical features, diagnosis, and survival analysis of dogs with glioma. *J Vet Intern Med*. 2021;35(4):1902-1917.

- 
- Junttila MR, de Sauvage FJ. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature*. 2013;501:346–354.
  - Kafka UCM, Carstens A, Steenkamp G, Symington H. Diagnostic value of magnetic resonance imaging and computed tomography for oral masses in dogs. *J S Afr Vet Assoc*. 2004;75:163–168.
  - Kambadakone AR, Sahani D V. Body perfusion CT: technique, clinical applications, and advances. *Radiol. Clin. North Am. Elsevier*; 2009;161–178.
  - Kambadakone A, Yoon SS, Kim TMM, et al. CT perfusion as an imaging biomarker in monitoring response to neoadjuvant bevacizumab and radiation in soft-tissue sarcomas: comparison with tumor morphology, circulating and tumor biomarkers, and gene expression. *Am J Roentgenol*. 2015;204(1):W11-W18.
  - Kamijo T, Yokose T, Hasebe T, et al. Potential role of microvessel density in predicting radiosensitivity of T1 and T2 stage laryngeal squamous cell carcinoma treated with radiotherapy. *Clin Cancer Res*. 2000;6(8):3159-3165.
  - Kaser-Hotz B, Sumova A, Lomax A, et al. A comparison of normal tissue complication probability of brain for proton and photon therapy of canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound [Internet]*. 2002 Sep;43:480–486.
  - Kawabe M, Mori T, Ito Y, et al. Outcomes of dogs undergoing radiotherapy for treatment of oral malignant melanoma: 111 cases (2006–2012). *J Am Vet Med Assoc*. 2015;247(10):1146-1153.
  - Kelsey KL, Gieger TL, Nolan MW. Single fraction stereotactic radiation therapy (stereotactic radiosurgery) is a feasible method for treating intracranial meningiomas in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2018;(March):632-638.
  - Kent MS, Bommarito D, Feldman E, Theon AP. Survival, neurologic response, and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *J Vet Intern Med*. 2007;21(5):1027-1033.
  - Keyerleber MA, McEntee MC, Farrelly J, Thompson MS, Scrivani P, Dewey CW. Three-dimensional conformal radiation therapy alone or in combination with surgery for treatment of canine intracranial meningiomas. *Vet Comp Oncol*. 2015;13(4):385-397.
  - Kim JW, Jeong YY, Chang NK, et al. Perfusion CT in colorectal cancer: comparison of perfusion parameters with tumor grade and microvessel density. *Korean J Radiol*. 2012;13:S89.

- 
- Kim WS, Vinayak A, Powers B. Comparative review of malignant melanoma and histologically well-differentiated melanocytic neoplasm in the oral cavity of dogs. *Vet Sci* [Internet]. 2021 Nov 2;8:261.
  - Kimura M, da Cruz LCH. Multiparametric mr imaging in the assessment of brain tumors. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2016;24:87-122.
  - Kishimoto M, Tsuji Y, Katabami N, Shimizu J, Lee KJ, Iwasaki T, et al. Measurement of canine pancreatic perfusion using dynamic computed tomography: Influence of input-output vessels on deconvolution and maximum slope methods. *Eur J Radiol*. 2011;77(1):175–81.
  - Kishimoto M, Yamada K, Seok JS, Shimizu J, Kobayashi Y, Akiba Y, et al. Analysis of blood flow in a third ventricular ependymoma and an olfactory bulb meningioma by using perfusion computed tomography. *J Vet Med Sci*. 2008;70(9):981–3.
  - Kitchell BE, Brown DM, Luck EE, Woods LL, Orenberg EK, Bloch DA. Intralesional implant for treatment of primary oral malignant melanoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc. United States*; 1994 Jan;204:229–236.
  - Klansnoh U, Banlunara W, Choisunirachon N. Computed tomographic contrast enhancement and tumor angiogenesis in canine oral tumors. *Thai J Vet Med*. 2018;48:573–581.
  - Kleibeuker EA, Fokas E, Allen PD, et al. Low dose angiostatic treatment counteracts radiotherapy-induced tumor perfusion and enhances the anti-tumor effect. *Oncotarget*. 2016;7:76613–76627.
  - Klotz E, Haberland U, Glatting G, et al. Technical prerequisites and imaging protocols for CT perfusion imaging in oncology. *Eur J Radiol*. 2015;84(12):2359-2367.
  - Kneissl S, Probst A. Magnetic resonance imaging features of presumed normal head and neck lymph nodes in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2006;47(6):538–41.
  - Kobayashi H, Reijnders K, English S, Yordanov AT, Milenic DE, Sowers AL, et al. Application of a macromolecular contrast agent for detection of alterations of tumor vessel permeability induced by radiation. *Clin Cancer Res* 2004; 10:7712–20.
  - Konerding MA, Miodonski AJ, Lametschwandtner A. Microvas- cular corrosion casting in the study of tumor vascularity: a review. *Scanning Microsc* 1995; 9:1233–44.
  - Kosovsky JK, Matthiesen DT, Marretta SM, Patnaik AK. Results of partial mandibulectomy for the treatment of oral tumors in 142 dogs. *Vet Surg* [Internet]. 1991 Nov;20:397–401.

- 
- Koblik PD, Lecouteur RA, Higgins RJ, et al. Ct-guided brain biopsy using a modified Pelorus Mark III stereotactic system: Experience with 50 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 1999;40:434–440.
  - Koehler JW, Miller AD, Miller CR, et al. A revised diagnostic classification of canine glioma: Towards validation of the canine glioma patient as a naturally occurring preclinical model for human glioma. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2018;77:1039–1054.
  - Kondo Y, Matsunaga S, Mochizuki M, et al. Prognosis of canine patients with nasal tumors according to modified clinical stages based on computed tomography: a retrospective study. *J Vet Med Sci*. 2008;70:207–212.
  - Koyasu S, Tsuji Y, Harada H, Nakamoto Y, Nobashi T, Kimura H, et al. Evaluation of tumor-associated stroma and its relationship with tumor hypoxia using dynamic contrast-enhanced CT and 18f misonidazole PET in murine tumor models. *Radiology*. 2016;278(3):734–41.
  - Kraft SL, Gavin PR, DeHaan C, Moore M, Wendling LR, Leathers CW. Retrospective review of 50 canine intracranial tumors evaluated by magnetic resonance imaging. *J Vet Intern Med [Internet]*. 1997;11:218–225.
  - Kremer S, Grand S, Remy C, et al. Cerebral blood volume mapping by MR imaging in the initial evaluation of brain tumors. *J Neuroradiol*. 2002;29(2):105-113.
  - Kruger JM, Wemmert C, Sternberger L, Bonnas C, Dietmann G, Gancarski P, Feuerhake F. Combat or surveillance? Evaluation of the heterogeneous inflammatory breast cancer microenvironment. *J Pathol*. 2013;229:569–578.
  - Kubicek L, Milner R, An Q, Kow K, Chang M, Cooke K, et al. Outcomes and prognostic factors associated with canine sinonasal tumors treated with curative intent cone-based stereotactic radiosurgery (1999-2013). *Vet Radiol Ultrasound*. 2016 May;57(3):331–40.
  - Kühnel S, Kessler M. Prognose oraler (gingivaler) plattenepithelkarzinome beim hund nach chirurgischer therapie: Eine retrospektive untersuchung bei 40 patienten. *Tierarztl Prax Ausgabe K Kleintiere - Heimtiere*. 2014;42:359–366.
  - la Fontaine MD, McDaniel LS, Kubicek LN, Chappell RJ, Forrest LJ, Jeraj R. Patient characteristics influencing the variability of distributed parameter-based models in DCE-CT kinetic analysis. *Vet Comp Oncol*. 2017 Mar;15(1):105–17.
  - Ladue TA, Dodge R, Page RL, Price GS, Hauck ML, Thrall DE. Factors influencing survival after radiotherapy of nasal tumors in 130 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 1999;40:312–317.

- 
- Ladue T, Klein MK. Toxicity criteria of the veterinary radiation therapy oncology group. *Vet Radiol Ultrasound*. 2001;42:475–476.
- LaDue-Miller T, Price GS, Page RL, Thrall DE. Radiotherapy of canine non-tonsillar squamous cell carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound*. 1996;37:74–77.
- Laing EJ, Binnington AG. Surgical therapy of canine nasal tumors: A retrospective study (1982-1986). *Can Vet J = La Rev Vet Can [Internet]*. 1988 Oct;29:809–813.
- Lana SE, Dernell WS, Lafferty MH, Withrow SJ, LaRue SM. Use of radiation and a slow-release cisplatin formulation for treatment of canine nasal tumors. *Vet Radiol Ultrasound [Internet]*. 2004 Nov;45:577–581.
- Langova V, Mutsaers A, Phillips B, Straw R. Treatment of eight dogs with nasal tumours with alternating doses of doxorubicin and carboplatin in conjunction with oral piroxicam. *Aust Vet J [Internet]*. 2004 Nov;82:676–680.
- Lawrence JA, Forrest LJ, Turek MM, Miller PE, Mackie TR, Jaradat HA, et al. Proof of principle of ocular sparing in dogs with sinonasal tumors treated with intensity-modulated radiation therapy. *Vet Radiol Ultrasound*. 2010 Sep;51(5):561–70.
- le Grange F, Cassoni AM, Seddon BM. Tumour volume changes following pre-operative radiotherapy in borderline resectable limb and trunk soft tissue sarcoma. *Eur J of Surg Oncol*. 2014;40(4):394–401.
- Lefebvre J, Kuehn NF, Wortinger A. Computed tomography as an aid in the diagnosis of chronic nasal disease in dogs. *J Small Anim Pract [Internet]*. 2005 Jun;46:280–285.
- Lee YJ, Ahn KJ, Kim BS, Yoo WJ. Role of perfusion CT in differentiating between various cerebral masses using normalized permeability surface area product and cerebral blood volume. *Clin Imaging [Internet]*. Elsevier Inc.; 2012;36:680–687.
- Lee S kwon, Jang Y, Jung J woo, Je H, Choi J. Comparison of renal blood flow using maximum slope-based computed tomography perfusion and ultrasound flow probe in healthy dogs. *Front Vet Sci*. 2020 Oct 9;7(October):1–8.
- Lee S, Jang Y, Lee G, Jeon S, Kim D, Choi J. CT features of malignant and benign oral tumors in 28 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2021;62(5):549-556.

- 
- Li JP, Feng GL, Li DQ, Wang HB, Zhao DL, Wan Y, et al. Detection and differentiation of early hepatocellular carcinoma from cirrhosis using CT perfusion in a rat liver model. *Hepatobiliary Pancreatic Dis. Int.* 2016;15(6):612–8.
- Liptak JM, Withrow SJ: Cancer of the Gastrointestinal Tract: Oral Tumors. In Withrow SJ, Vail DM and Page RL (eds): *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5th edn). Elsevier, pp. 381-397, 2013.
- Liu F, Jin T, Liu L, Xiang Z, Yan R, Yang H. The role of concurrent chemotherapy for stage II nasopharyngeal carcinoma in the intensity-modulated radiotherapy era: A systematic review and meta-analysis. Ma Y (ed): *PLoS One* [Internet]. 2018 Mar 22;13:e0194733.
- London C, Mathie T, Stingle N, et al. Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia ®) in solid tumours. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2012 Sep;10:194–205.
- Lucroy MD, Long KR, Blaik MA, Higbee RG, Ridgway TD. Photodynamic therapy for the treatment of intranasal tumors in 3 dogs and 1 cat. *J Vet Intern Med* [Internet]. 2003;17:727.
- Luczynska E, Gasinska A, Blecharz P, Stelmach A, Jereczek-Fossa BA, Reinfuss M. Value of perfusion CT parameters, microvessel density and VEGF expression in differentiation of benign and malignant prostate tumours. *Pol J Pathol.* 2014;3(3):229-236.
- Lux CN, Culp WTN, Johnson LR, et al. Prospective comparison of tumor staging using computed tomography versus magnetic resonance imaging findings in dogs with nasal neoplasia: a pilot study. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2017 May;58:315–325.
- Lyng H, SundfØr K, Rofstad EK. Changes in tumor oxygen tension during radiotherapy of uterine cervical cancer: Relation- ship to changes in vascular density, cell density, and frequency of mitosis and apoptosis. *Int J Radiat Biol Oncol Phys* 2000; 46:935–46.
- Maarouf R, Sakr H. A potential role of CT perfusion parameters in grading of brain gliomas. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2015;46(4):1119–28.
- MacLellan JD, Arnold SA, Dave AC, Hunt MA, Pluhar GE. Association of magnetic resonance imaging–based preoperative tumor volume with postsurgical survival time in dogs with primary intracranial glioma. *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 2018 Jan;252:98–102.
- MacLeod AG, Dickinson PJ, LeCouteur RA, Higgins RJ, Pollard RE. Quantitative assessment of blood volume and permeability in cerebral mass lesions using dynamic contrast-enhanced computed tomography in the dog. *Acad Radiol.* 2009;16(10):1187–95.

- 
- Madewell BR, Priester WA, Gillette EL, Snyder SP. Neoplasms of the nasal passages and paranasal sinuses in domesticated animals as reported by 13 veterinary colleges. *Am J Vet Res.* 1976 Jul;37(7):851–6.
- Maiolino P, Papparella S, Restucci B, De Vico G. Angiogenesis in squamous cell carcinomas of canine skin: An immunohistochemical and quantitative analysis. *J Comp Pathol.* 2001;125(2-3):117-121.
- Malinen E, Rødal J, Knudtsen IS, Søvik Å, Skogmo HK. Spatiotemporal analysis of tumor uptake patterns in dynamic (18)FDG-PET and dynamic contrast enhanced CT. *Acta Oncol.* 2011;50(6):873–82.
- Mander K, Finnie J. Tumour angiogenesis, anti-angiogenic therapy and chemotherapeutic resistance. *Aust Vet J.* 2018;96:371-378.
- Mäntylä MJ, Toivanen JT, Pitkänen MA, Rekonen AH. Radiation-induced changes in regional blood flow in human tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982; 8:1711–7.
- Marcinowska A, Warland J, Brearley M, Dobson J. Comparison of two coarse fractionated radiation protocols for the management of canine pituitary macrotumor: an observational study of 24 dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2015;56:554–562.
- Mariani CL, Schubert TA, House RA, et al. Frameless stereotactic radiosurgery for the treatment of primary intracranial tumours in dogs. *Vet Comp Oncol.* 2015;13:409–423.
- Martano M, Iussich S, Morello E, Buracco P. Canine oral fibrosarcoma: Changes in prognosis over the last 30 years? *Vet J [Internet]. Elsevier Ltd.;* 2018 Nov;241:1–7.
- Martin-Vaquero P, Da Costa RC, Wolk KE, Premanandan C, Oglesbee MJ. MRI features of gliomatosis cerebri in a dog. *Vet Radiol Ultrasound.* 2012;53:189–192.
- Maruo T, Nagata K, Fukuyama Y, et al. Intraoperative acridine orange photodynamic therapy and cribriform electron-beam irradiation for canine intranasal tumors: A pilot study. *Can Vet J = La Rev Vet Can.* 2015;56:1232–1238.
- Maruo T, Shida T, Fukuyama Y, et al. Retrospective Study of Canine Nasal Tumor Treated with Hypofractionated Radiotherapy. *J Vet Med Sci [Internet].* 2011;73:193–197.
- Mason SL, Maddox TW, Lillis SM, Blackwood L. Late presentation of canine nasal tumours in a UK referral hospital and treatment outcomes. *J Small Anim Prac.* 2013 Jul;54(7):347–53.

- 
- Mayer MN, DeWalt JO, Sidhu N, Mauldin GN, Waldner CL. Outcomes and adverse effects associated with stereotactic body radiation therapy in dogs with nasal tumors: 28 cases (2011–2016). *J Am Vet Med Assoc*. 2019 Mar;254(5):602–12.
- Mayer P, Fritz F, Koell M, et al. Assessment of tissue perfusion of pancreatic cancer as potential imaging biomarker by means of Intravoxel incoherent motion MRI and CT perfusion: correlation with histological microvessel density as ground truth. *Cancer Imaging*. 2021;21(1):1-12.
- Mayer-Stankeová S, Fidel J, Wergin MC, et al. Proton spot scanning radiotherapy of spontaneous canine tumors. *Vet Radiol Ultrasound [Internet]*. 2009 May;50:314–318.
- Mayr NA, Yuh WT, Magnotta VA, Ehrhardt JC, Wheeler JA, Sorosky JI, et al. Tumor perfusion studies using fast magnetic resonance imaging technique in advanced cervical cancer: a new noninvasive predictive assay. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 36:623–33.
- McKinney W. Data structures for statistical computing in python. In: *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*. Vol 1. ; 2010:56-61.
- Meij BP, Voorhout G, Van Den Ingh TSGAM, Hazewinkel HAW, Teske E, Rijnberk A. Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with Pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Surg*. 1998;27:246–261.
- Meler E, Dunn M, Lecuyer M. A retrospective study of canine persistent nasal disease: 80 cases (1998-2003). *Can Vet J*. 2008;49:71–76.
- Mestrinho LA, Faísca P, Peleteiro MC, Niza MMRE. PCNA and grade in 13 canine oral squamous cell carcinomas: association with prognosis. *Vet Comp Oncol*. 2017;15(1):18-24.
- Melian C, Perez-Alenza MD, Peterson ME. Hyperadrenocorticism in dogs. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7th ed. St. Louis, MO: SaundersElsevier; 2010:1816–1840.
- Mellanby RJ, Stevenson RK, Herrtage ME, White RAS, Dobson JM. Long-term outcome of 56 dogs with nasal tumours treated with four doses of radiation at intervals of seven days. *Vet Rec [Internet]*. 2002 Aug 31;151:253–257.
- Merino-Gutierrez V, Borrego JF, Puig J, Hernández A, Clemente-Vicario F. Treatment of advanced-stage canine nasal carcinomas with toceranib phosphate: 23 cases (2015–2020). *J Small Anim Pract [Internet]*. 2021 Oct 16;62:881–885.

- 
- Miles MS, Dhaliwal RS, Moore MP, Reed AL. Association of magnetic resonance imaging findings and histologic diagnosis in dogs with nasal disease: 78 cases (2001-2004). *J Am Vet Med Assoc*. 2008;232:1844–1849.
- Miles KA, Lee TY, Goh V, Klotz E, Cuenod C, Bisdas S, et al. Current status and guidelines for the assessment of tumour vascular support with dynamic contrast-enhanced computed tomography. *Eur Radiol*. 2012;22(7):1430–41.
- Miller AD, Miller CR, Rossmeisl JH. Canine primary intracranial cancer: a clinicopathologic and comparative review of glioma, meningioma, and choroid plexus tumors. *Front Oncol*. 2019;9:1–22.
- Moirano SJ, Dewey CW, Haney S, Yang J. Efficacy of frameless stereotactic radiotherapy for the treatment of presumptive canine intracranial gliomas: A retrospective analysis (2014-2017). *Vet Comp Oncol*. 2020;18(4):528-537.
- Monforte Monteiro SR, Rossmeisl JH, Russell J, et al. Effect of radiotherapy on freedom from seizures in dogs with brain tumors. *J Vet Intern Med*. 2020;34(2):821-827. doi:10.1111/jvim.15695
- Morgan MJ, Lurie DM, Villamil AJ. Evaluation of tumor volume reduction of nasal carcinomas versus sarcomas in dogs treated with definitive fractionated megavoltage radiation: 15 cases (2010-2016). *BMC Res Notes*. 2018;11(1):1–6.
- Morimoto CY, Waldner CL, Fan V, et al. Use of MRI increases interobserver agreement on gross tumor volume for imaging-diagnosed canine intracranial meningioma. *Vet Radiol Ultrasound [Internet]*. 2020 Nov 8;61:726–737.
- Morris JS, Dunn KJ, Dobson JM, White RAS. Effects of radiotherapy alone and surgery and radiotherapy on survival of dogs with nasal tumours. *J Small Anim Pract*. 1994;35(11):567–73.
- Morris JS, Dunn KJ, Dobson JM, White RAS. Radiological assessment of severity of canine nasal tumours and relationship with survival. *J Small Anim Pract*. 1996;37:1–6.
- Mortier JR, Blackwood L. Treatment of nasal tumours in dogs: a review. *J Small Anim Pract [Internet]*. 2020 Jul 26;61:404–415.
- Motta L, Mandara MT, Skerritt GC. Canine and feline intracranial meningiomas: An updated review. *Vet J [Internet]*. Elsevier Ltd; 2012;192:153–165.
- Murphy SM, Lawrence JA, Schmiedt CW, et al. Image-guided transnasal cryoablation of a recurrent nasal adenocarcinoma in a dog. *J Small Anim Pract [Internet]*. 2011 Jun;52:329–333.

- 
- Nabavi DG, Cenic A, Dool J, Smith RML, Espinosa F, Craen RA, et al. Quantitative assessment of cerebral hemodynamics using CT: stability, accuracy, and precision studies in dogs. *J Comput Assist Tomogr.* 1999;23(4).
- Nell E, Ober C, Rendahl A, Forrest L, Lawrence J. Volumetric tumor response assessment is inefficient without overt clinical benefit compared to conventional, manual veterinary response assessment in canine nasal tumors. *Vet Rad Ultrasound.* 2020;61(5):592-603.
- Nemeč A, Murphy B, Kass PH, Verstraete FJM. Histological subtypes of oral non-tonsillar squamous cell carcinoma in dogs. *J Comp Pathol.* 2012;147(2-3):111-120.
- Ng QS, Goh V, Milner J, Padhani AR, Saunders MI, Hoskin PJ. Acute tumor vascular effects following fractionated radiotherapy in human lung cancer: in vivo whole tumor assessment using volumetric perfusion computed tomography. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 67:417
- Ng CS, Wei W, Ghosh P, Anderson E, Herron DH, Chandler AG. Observer variability in CT perfusion parameters in primary and metastatic tumors in the lung. *Technol Cancer Res Treat.* 2018;17:1–9.
- Nguyen SM, Thamm DH, Vail DM, London CA. Response evaluation criteria for solid tumours in dogs (v1.0): A Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Vet Comp Oncol.* 2015;13(3):176–83.
- Nitzl D, Ohlerth S, Mueller-Schwandt F, Angst A, Roos M, Kaser-Hotz B. Dynamic computed tomography to measure tissue perfusion in spontaneous canine tumors. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009;50(4):347–52.
- Nolan MW, Berman AR, Watson-Skaggs ML, et al. Stereotactic radiotherapy (10 Gy X 3) for canine nonlymphomatous intranasal tumors is associated with prolonged survival and minimal risk of severe radiotoxicity. *J Am Vet Med Assoc [Internet].* 2022 Jun 22;260:1–11.
- Northrup NC, Etue SM, Ruslander DM, et al. Retrospective study of orthovoltage radiation therapy for nasal tumors in 42 dogs. *J Vet Intern Med [Internet].* 2001 May;15:183–189.
- Nyflot MJ, Kruser TJ, Traynor AM, et al. Phase 1 trial of bevacizumab with concurrent chemoradiation therapy for squamous cell carcinoma of the head and neck with exploratory functional imaging of tumor hypoxia, proliferation, and perfusion. *Int J Radiat Oncol [Internet].* 2015 Apr;91:942–951.

- 
- O'Neill DG, Scudder C, Faire JM, et al. Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK from 2009 to 2014. *J Small Anim Pract.* 2016;57:365–373.
- Ohlerth S, Wergin M, Bley CR, et al. Correlation of quantified contrast-enhanced power Doppler ultrasonography with immunofluorescent analysis of microvessel density in spontaneous canine tumours. *Vet J [Internet]. Elsevier Ltd;* 2010;183:58–62.
- Orth M, Lauber K, Niyazi M, et al. Current concepts in clinical radiation oncology. *Radiat Environ Biophys.* 2014;53:1–29.
- Osimani M, Bellini D, Di Cristofano C, et al. Perfusion MDCT of prostate cancer: Correlation of perfusion CT parameters and immunohistochemical markers of angiogenesis. *Am J Roentgen.* 2012;199(5):1042-1048.
- Otnod JM, Smedley RC, Walshaw R, Hauptman JG, Kiupel M, Obradovich JE. A retrospective analysis of the efficacy of Oncept vaccine for the adjunct treatment of canine oral malignant melanoma. *Vet Comp Oncol.* 2013;11:219–229.
- Overgaard J. Hypoxic radiosensitization: adored and ignored. *J Clin Oncol [Internet]. Wolters Kluwer;* 2007 Sep 10;25:4066–4074.
- Palus V, Volk H a., Lamb CR, Targett MP, Cherubini GB. MRI features of CNS lymphoma in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 2012;53:44–49.
- Patnaik AK, Lieberman PH, Erlandson RA, Liu SK. Canine sinonasal skeletal neoplasms: chondrosarcomas and osteosarcomas. *Vet Pathol.* 1984 Sep 26;21(5):475–82.
- Park S, Jung J woo, Je H, Jang Y, Choi J. Effect of slice thickness on computed tomographic perfusion analysis of the pancreas in healthy dogs. *Am J Vet Res.* 2020 Sep;81(9):732–8.
- Pazzi P, Steenkamp G, Rixon AJ. Treatment of canine oral melanomas: a critical review of the literature. *Vet Sci.* 2022;9.
- Peterson KKL, MacLeod AGA, Wisner ER, F R, Pollard RE. Quantitative assessment of blood volume, blood flow, and permeability of the brain of clinically normal dogs by use of dynamic contrast- enhanced computed tomography. *Am J Vet Res.* 2008;69(1):45–50.
- Petralia G, Bonello L, Viotti S, Preda L, D'Andrea G, Bellomi M. CT perfusion in oncology: How to do it. *Cancer Imaging.* 2010;10(1):8–19.

- 
- Petralia G, Preda L, Giugliano G, et al. Perfusion computed tomography for monitoring induction chemotherapy in patients with squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: Correlation between changes in tumor perfusion and tumor volume. *J Comput Assist Tomogr.* 2009;33(4):552-559.
- Pietsch C, de Galiza Barbosa F, Hüllner MW, et al. Combined PET/CT-perfusion in patients with head and neck cancers might predict failure after radio-chemotherapy: A proof of concept study. *BMC Med Imaging.* 2015;15(1):1-9.
- Pirhonen JP, Grenman SA, Breadbacka AB, Bahado-Singh RO, Salmi TA. Effects of external radiotherapy on uterine blood flow in patients with advanced cervical carcinoma assessed by color Doppler ultrasonography. *Cancer* 1995; 76:67–71.
- Poirier VJ, Bley CR, Roos M, Kaser-hotz B. Efficacy of RT for the treatment of macroscopic canine oral STS. *In Vivo (Brooklyn).* 2006;20(3):415-419.
- Pollard RE, Reilly CM, Uerling MR, Wood FD, Feldman EC. Cross-sectional imaging characteristics of pituitary adenomas, invasive adenomas and adenocarcinomas in dogs: 33 cases (1988-2006). *J Vet Intern Med.* 2010;24(1):160-165.
- Preda L, Calloni SF, Moscatelli MEM, Cossu Rocca M, Bellomi M. Role of CT perfusion in monitoring and prediction of response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Res Int.* 2014;2014:917150.
- Preziosi R, Sarli G, Paltrinieri M. Prognostic value of intramural vessel density in cutaneous mast cell tumour of the dog. *J Comp Pathol.* 2004;130(2-3):143-151.
- Proulx DR, Ruslander DM, Dodge RK, et al. A retrospective analysis of 140 dogs with oral melanoma treated with external beam radiation. *Vet Radiol Ultrasound.* 2003;44(3):352-359.
- Qi Q, Yeung TPC, Lee TY, Bauman G, Crukley C, Morrison L, et al. Evaluation of CT perfusion biomarkers of tumor hypoxia. *PLoS One.* 2016;11(4):1–11.
- Qin HY, Sun H, Wang X, Bai R, Li Y, Zhao J. Correlation between CT perfusion parameters and microvessel density and vascular endothelial growth factor in adrenal tumors. *PLoS One.* 2013;8(11):1-9.
- Ramos-Vara JA, Beissenherz ME, Miller MA, et al. Retrospective Study of 338 Canine Oral Melanomas with Clinical, Histologic, and Immunohistochemical Review of 129 Cases. *Vet Pathol [Internet].* 2000 Nov 26;37:597–608.

- 
- Rancilio NJ, Custead MR, Poulson JM. Radiation therapy communication-reirradiation of a nasal tumor in a brachycephalic dog using intensity modulated radiation therapy. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2016 Sep;57:E46–E50.
  - Ranieri G, Gadaleta CD, Patruno R, et al. A model of study for human cancer: Spontaneous occurring tumors in dogs. Biological features and translation for new anticancer therapies. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013;88:187–197.
  - Rassnick KM, Goldkamp CE, Erb HN, et al. Evaluation of factors associated with survival in dogs with untreated nasal carcinomas: 139 cases (1993–2003). *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 2006 Aug;229:401–406.
  - Rassnick KM, Ruslander DM, Cotter SM, et al. Use of carboplatin for treatment of dogs with malignant melanoma: 27 cases (1989-2000). *J Am Vet Med Assoc*. 2001;218:1444–1448.
  - Razek AAKA, Tawfik AM, Elsorogy LGA, Soliman NY. Perfusion CT of head and neck cancer. *Eur J Radiol*. 2014;83(3):537–44.
  - Reif JS, Bruns C, Lower KS. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and exposure to environmental tobacco smoke in pet dogs. *Am J Epidemiol*. 1998;147:488–492.
  - Reif JS, Cohen D. The environmental distribution of canine respiratory tract neoplasms. *Arch Environ Health* [Internet]. 1971;22:136–140.
  - Reymond N, D'Água BB, Ridley AJ. Crossing the endothelial barrier during metastasis. *Nat Rev Cancer*. Nature Publishing Group; 2013;13:858–870.
  - Restucci B, De Vico G, Maiolino P. Evaluation of angiogenesis in canine mammary tumors by quantitative platelet endothelial cell adhesion molecule immunohistochemistry. *Vet Pathol*. 2000;37(4):297-301.
  - Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, Koodie L, Marker PH, Verfaillie CM. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest* 2002; 109:337–46.
  - Riggs J, Adams VJ, Hermer J v., Dobson JM, Murphy S, Ladlow JF. Outcomes following surgical excision or surgical excision combined with adjunctive, hypofractionated radiotherapy in dogs with oral squamous cell carcinoma or fibrosarcoma. *J Am Vet Med Assoc*. 2018;253(1):73-83.

- 
- Rødal J, Rusten E, Søvik Å, Skogmo HK, Malinen E. Functional imaging to monitor vascular and metabolic response in canine head and neck tumors during fractionated radiotherapy. *Acta Oncol.* 2013;52(7):1293–9.
- Ródenas S, Pumarola M, Gaitero L, Zamora À, Añor S. Magnetic resonance imaging findings in 40 dogs with histologically confirmed intracranial tumours. *Vet J.* 2011;187(1):85-91.
- Rohrer Bley C, Staudinger C, Bley T, Marconato L, Sabbatini S, Beckmann K. Canine presumed glial brain tumours treated with radiotherapy: Is there an inferior outcome in tumours contacting the subventricular zone? *Vet Comp Oncol [Internet].* 2022 Mar 10;20:29–37.
- Rossmeisl JH. New treatment modalities for brain tumors in dogs and cats. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract [Internet].* Elsevier Inc; 2014;44:1013–1038.
- Rossmeisl JH, Garcia PA, Daniel GB, et al. Invited review - neuroimaging response assessment criteria for brain tumors in veterinary patients. *Vet Radiol Ultrasound.* 2014;55:115-132.
- Rossmeisl JH, Jones JC, Zimmerman KL, Robertson JL. Survival time following hospital discharge in dogs with palliatively treated primary brain tumors. *J Am Vet Med Assoc [Internet].* 2013 Jan 15;242:193–198.
- Rossmeisl JH, Pancotto TE. Tumors of the Nervous System. *Withrow MacEwen’s Small Anim Clin Oncol [Internet].* Elsevier; 2019;657–674.
- Rumboldt Z, Al-Okaili R, Deveikis JP. Perfusion CT for head and neck tumors: Pilot study. *Am J Neuroradiol.* 2005;26:1178–1185.
- Russo M, Lamb CR, Jakovljevic S. Distinguishing rhinitis and nasal neoplasia by radiography. *Vet Radiol Ultrasound.* 1999;41:118–124.
- Saggiaro M, D’Angelo E, Bisogno G, Agostini M, Pozzobon M. Carcinoma and sarcoma microenvironment at a glance: where we are. *Front Oncol.* 2020;10(March):1-9.
- Sanna K, Rofstad EK. Hypoxia-induced resistance to doxorubicin and methotrexate in human melanoma cell lines in vitro. *Int J Cancer.* 1994;58:258–262.
- Sanders K, Galac S, Meij BP. Pituitary tumour types in dogs and cats. *Vet J [Internet].* Elsevier Ltd.; 2021 Apr;270:105623.

- 
- Sato A, Teshima T, Ishino H, et al. A magnetic resonance imaging-based classification system for indication of trans-sphenoidal hypophysectomy in canine pituitary-dependent hypercortisolism. *J Small Anim Pract* [Internet]. 2016 May;57:240–246.
  - Satoh A, Shuto K, Okazumi S, et al. Role of perfusion CT in assessing tumor blood flow and malignancy level of gastric cancer. *Dig Surg*. 2010;27:253–260.
  - Saunders JH, Van Bree H, Gielen I, De Rooster H. Diagnostic value of computed tomography in dogs with chronic nasal disease. *Vet Radiol Ultrasound*. 2003;44:409–413.
  - Sarowitz BN, Davis GJ, Kim S. Outcome and prognostic factors following curative-intent surgery for oral tumours in dogs: 234 cases (2004 to 2014). *J Small Anim Pract*. 2017;58(3):146-153.
  - Satheesh Kumar E, Ramesh D, Kailasanathan N. The Role of CT Perfusion Parameters in Grading of Brain Gliomas in Correlation with Histopathology. *Int J Contemp Med Res*. 2017;4(2):540–4.
  - Sawada H, Mori A, Lee P, Sugihara S, Oda H, Sako T. Pituitary size alteration and adverse effects of radiation therapy performed in 9 dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *Res Vet Sci* [Internet]. Elsevier; 2018;118:19–26.
  - Schweizer-Gorgas D, Henke D, Oevermann A, Lang J, Vandeveldel M, Steffen F. Magnetic resonance imaging features of canine gliomatosis cerebri. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2018 Mar;59:180–187.
  - Scott JN, Brasher PMA, Sevicik RJ, Rewcastle NB, Forsyth PA. How often are nonenhancing supratentorial gliomas malignant? A population study. *Neurology*. 2002;59:947–949.
  - Selmic LE, Lafferty MH, Kamstock DA, et al. Outcome and prognostic factors for osteosarcoma of the maxilla, mandible, or calvarium in dogs: 183 cases (1986-2012). *J Am Vet Med Assoc*. 2014;245(8):930-938.
  - Sessums K, Mariani C. Intracranial meningioma in dogs and cats: a comparative review. *Compend Contin Educ Vet* [Internet]. 2009 Jul;31:330–339.
  - Shankar JJS, Woulfe J, da Silva V, Nguyen TB. Evaluation of perfusion CT in grading and prognostication of high-grade gliomas at diagnosis: A pilot study. *Am J Roentgenol*. 2013;200(5):504-510.

- 
- Sharma S, Boston SE, Skinner OT, et al. Survival time of juvenile dogs with oral squamous cell carcinoma treated with surgery alone: A Veterinary Society of Surgical Oncology retrospective study. *Vet Surg.* 2021;50(4):740-747.
- Schmidt BR, Glickman NW, DeNicola DB, De Gortari AE, Knapp DW. Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;218:1783–1786.
- Simčič P, Lowe R, Granziera V, Pierini A, Torrigiani F, Lubas G. Electrochemotherapy in treatment of canine oral non-tonsillar squamous cell carcinoma. A case series report. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2020 Sep 27;18:428–432.
- Skinner OT, Boston SE, Giglio RF, Whitley EM, Colee JC, Porter EG. Diagnostic accuracy of contrast-enhanced computed tomography for assessment of mandibular and medial retropharyngeal lymph node metastasis in dogs with oral and nasal cancer. *Vet Comp Oncol.* 2018 Dec;16(4):562–70.
- Skinner OT, Boston SE, Souza CH d. M. Patterns of lymph node metastasis identified following bilateral mandibular and medial retropharyngeal lymphadenectomy in 31 dogs with malignancies of the head. *Vet Comp Oncol.* 2017;15:881–889.
- Snyder JM, Shofer FS, van Winkle TJ, Massicotte C. Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986-2003). *J Vet Int Med.* 2006;20(3):669-675.
- Söffler C, Hartmann A, Gorgas D, et al. Magnetic resonance imaging features of esthesioneuroblastoma in three dogs and one cat. *Tierärztliche Prax Ausgabe K Kleintiere / Heimtiere* [Internet]. 2016 Jul 7;44:333–340.
- Sones E, Smith A, Schleis S, Brawner W, Almond G, Taylor K, et al. Survival times for canine intranasal sarcomas treated with radiation therapy: 86 cases (1996-2011). *Vet Radiol Ultrasound.* 2013 Mar;54(2):194–201.
- Song CW, Levitt SH. Quantitative study of vascularity in Walker carcinoma 256. *Cancer Res* 1971; 31:587–9.
- Song CW, Levitt SH. Vascular changes in Walker 256 carcinoma of rats following x irradiation. *Radiology* 1971; 100:397–407.
- Song CW, Payne T, Levitt SH. Vascularity and blood flow in x- irradiated Walker carcinoma 256 of rats. *Radiology* 1972; 104:693–7.

- 
- Song CW, Sung JH, Clement JJ, Levitt SH. Vascular changes in neuroblastoma of mice following x-irradiation. *Cancer Res* 1974; 34:2344–50.
  - Song RBB, Vite CHH, Bradley CWW, Cross JRR. Postmortem evaluation of 435 cases of intracranial neoplasia in dogs and relationship of neoplasm with breed, age, and body weight. *J Vet Intern Med* [Internet]. 2013 Sep;27:1143–1152.
  - Soukup A, Meier V, Pot S, Voelter K, Rohrer Bley C. A prospective pilot study on early toxicity from a simultaneously integrated boost technique for canine sinonasal tumours using image-guided intensity-modulated radiation therapy. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2018 Dec;16:441–449.
  - Soukup JW, Snyder CJ, Simmons BT, Pinkerton ME, Chun R. Clinical, histologic, and computed tomographic features of oral papillary squamous cell carcinoma in dogs: 9 cases (2008-2011). *J Vet Dent*. 2013;30:18–24.
  - Stadler KL, Ober CP, Feeney DA, Jessen CR. Multivoxel proton magnetic resonance spectroscopy of inflammatory and neoplastic lesions of the canine brain at 3.0 t. *Am J Vet Res*. 2014;75:982–989.
  - Stadler KL, Ruth JD, Pancotto TE, Werre SR, Rossmeisl JH. Computed tomography and magnetic resonance imaging are equivalent in mensuration and similarly inaccurate in grade and type predictability of canine intracranial gliomas. *Front Vet Sci* [Internet]. 2017;4:1–7.
  - Stevens A, Turek M, Vail D, Christensen N, Forrest L. Definitive-intent intensity modulated radiotherapy for modified-Adams' stage 4 canine sinonasal cancer: A retrospective study of 29 cases (2011-2017). *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2020 Nov 26;61:718–725.
  - Sturges BK, Dickinson PJ, Bollen AW, et al. Magnetic resonance imaging and histological classification of intracranial meningiomas in 112 dogs. *J Vet Intern Med* [Internet]. 2008 May;22:586–595.
  - Sutherland-Smith J, King R, Faissler D, Ruthazer R, Sato A. Magnetic resonance imaging apparent diffusion coefficients for histologically confirmed intracranial lesions in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011;52:142–148.
  - Sullivan M, Lee R, Skae CA. The radiological features of sixty cases of intra-nasal neoplasia in the dog. *J Small Anim Pract* [Internet]. 1987 Jul;28:575–586.
  - Sun ZQ, Cheng XF, Ge YX, Chen L, Yue JG, Jin LF, et al. Role of CT perfusion imaging in patients with variously differentiated gastric adenocarcinoma. *J Xray Sci Technol*. 2015;23(6):737–44.

- 
- Surlan-Popovic K, Bisdas S, Rumboldt Z, Koh TS, Strojan P. Changes in perfusion ct of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck treated during the course of concomitant chemoradiotherapy. *Am J Neuroradiol*. 2010 Mar 1;31(3):570–5.
- Suzuki DOH, Berkenbrock JA, de Oliveira KD, Freytag JO, Rangel MMM. Novel application for electrochemotherapy: Immersion of nasal cavity in dog. *Artif Organs [Internet]*. 2017 Aug;41:767–773.
- Takagi S, Yamazaki H, Izumi Y, Hanazono K, Hoshino Y, Hosoya K. Assessment of tumor enhancement by contrast-enhanced CT in solid tumor-bearing dogs treated with toceranib phosphate. *Vet Radiol Ultrasound*. 2020;61(4):427-434.
- Tan-Coleman B, Lyons J, Lewis C, Rosenberg M, Ruiz A. Prospective evaluation of a 5 × 4 gy prescription for palliation of canine nasal tumors. *Vet Rad Ultrasound*. 2013 Jan;54(1):89–92.
- Thaiss WM, Kaufmann S, Kloth C, Nikolaou K, Bösmüller H, Horger M. VEGFR-2 expression in HCC, dysplastic and regenerative liver nodules, and correlation with pre-biopsy Dynamic Contrast Enhanced CT. *Eur J Radiol*. 2016;85(11):2036–41.
- Théon AP, Feldman EC. Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurologic signs. *J Am Vet Med Assoc*. 1998;213:225–231.
- Théon AP, Rodriguez C, Madewell BR. Analysis of prognostic factors and patterns of failure in dogs with malignant oral tumors treated with megavoltage irradiation. *J Am Vet Med Assoc*. United States; 1997 Mar;210:778–784.
- Thomas WB, Wheeler SJ, Kramer R, Kornegay JN. Magnetic resonance imaging features of primary brain tumors in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 1996;37(1):20-27.
- Thompson JP, Ackerman N, Bellah JR, Beale BS, Ellison GW. 192iridium brachytherapy, using an intracavitary afterload device, for treatment of intranasal neoplasms in dogs. *Am J Vet Res [Internet]*. 1992 Apr;53:617–622.
- Thomson CB, Haynes KH, Pluhar GE. Comparison of visual metric and planimetry methods for brain tumor measurement in dogs. *Am J Vet Res*. 2016;77:471–477.
- Thrall DE, McEntee MC, Novotney C, Hauck ML, Page RL. a Boost Technique for Irradiation of Malignant Canine Nasal Tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 1993;34(4):295–300.

- 
- Thrall DE, Harvey CE. Radiotherapy of malignant nasal tumors in 21 dogs. *J Am Vet Med Assoc. United States*; 1983 Sep;183:663–666.
  - Thrall DE, Robertson ID, Mcleod DA, Heidner GL, Hoopes PJ, Page RL. A comparison of radiographic and computed tomographic findings in 31 dogs with malignant nasal cavity tumors. *Vet Radiol [Internet]*. 1989 Mar;30:59–66.
  - Tian F, Hayano K, Kambadakone AR, Sahani DV. Response assessment to neoadjuvant therapy in soft tissue sarcomas: using CT texture analysis in comparison to tumor size, density, and perfusion. *Abdom Imaging*. 2015;40(6):1705-1712.
  - Todoroff RJ, Brodey RS. Oral and pharyngeal neoplasia in the dog: a retrospective survey of 361 cases. *J Am Vet Med Assoc. United States*; 1979 Sep;175:567–571.
  - Toyoda I, Vernau W, Sturges BK, et al. Clinicopathological characteristics of histiocytic sarcoma affecting the central nervous system in dogs. *J Vet Intern Med*. 2020;34:828–837.
  - Treggiari E, Grant JP, North SM. A retrospective review of outcome and survival following surgery and adjuvant xenogeneic DNA vaccination in 32 dogs with oral malignant melanoma. *J Vet Med Sci*. 2016;78:845–850.
  - Treggiari E, Maddox TW, Gonçalves R, Benoit J, Buchholz J, Blackwood L. Retrospective Comparison of Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy Vs. Prednisolone Alone in 30 Cases of Canine Infratentorial Brain Tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2017;58(1):106-116.
  - Troeltzsch D, Niehues SM, Fluegge T, Neckel N, Heiland M, Hamm B, et al. The diagnostic performance of perfusion CT in the detection of local tumor recurrence in head and neck cancer.
  - Trojanowska A, Trojanowski P, Drop A, Jargiełło T, Klatka J. Head and neck cancer: value of perfusion CT in depicting primary tumor spread. *Med Sci Monit*. 2012;18(2):CR112-118.
  - Trojanowska A, Trojanowski P, Bisdas S, Staśkiewicz G, Drop A, Klatka J, et al. Squamous cell cancer of hypopharynx and larynx - Evaluation of metastatic nodal disease based on computed tomography perfusion studies. *Eur J Radiol*. 2012;81(5):1034–9.
  - Truong MT, Saito N, Ozonoff A, Wang J, Lee R, Qureshi MM, et al. Prediction of locoregional control in head and neck squamous cell carcinoma with serial CT perfusion during radiotherapy. *Am J Neuroradiol*. 2011;32(7):1195–201.

- 
- Truvé K, Dickinson P, Xiong A, et al. Utilizing the dog genome in the search for novel candidate genes involved in glioma development - genome wide association mapping followed by targeted massive parallel sequencing identifies a strongly associated locus. *PLoS Genet.* 2016;12:1–22.
  - Tubiana M. Tumor Cell Proliferation Kinetics and Tumor Growth Rate. *Acta Oncol.* 1989;28:113–121.
  - Tuntiyatorn L, Fusuwankaya E, Sawangsilpa T, Bhongmakapat T. CT perfusion in predicting treatment response of nasopharyngeal carcinoma. *J Med Assoc Thai.* 2014;97(3):333–41.
  - Tuohy JL, Selmic LE, Worley DR, Ehrhart NP, Withrow SJ. Outcome following curative-intent surgery for oral melanoma in dogs: 70 cases (1998–2011). *J Am Vet Med Assoc.* 2014;245(11):1266–1273.
  - Turek M, LaDue T, Looper J, et al. Multimodality treatment including ONCEPT for canine oral melanoma: A retrospective analysis of 131 dogs. *Vet Radiol Ultrasound* [Internet]. 2020 Jul 22;61:471–480.
  - Uriarte A, Moissonnier P, Thibaud JL, Reyes-Gomez E, Devauchelle P, Blot S. Surgical treatment and radiation therapy of frontal lobe meningiomas in 7 dogs. *Can Vet J.* 2011;52:748–752.
  - van Asselt N, Christensen N, Meier V, et al. Definitive-intent intensity-modulated radiation therapy provides similar outcomes to those previously published for definitive-intent three-dimensional conformal radiation therapy in dogs with primary brain tumors: A multi-institutional retrospective stud. *Vet Radiol Ultrasound.* 2020;61(March):vru.12868.
  - van der Steen F, Zandvliet M. Treatment of canine oral papillary squamous cell carcinoma using definitive-intent radiation as a monotherapy—a case series. *Vet Comp Oncol.* 2021;19:152–159.
  - van Meervenne S, Verhoeven PS, de Vos J, Gielen IMVL, Polis I, Van Ham LML. Comparison between symptomatic treatment and lomustine supplementation in 71 dogs with intracranial, space-occupying lesions. *Vet Comp Oncol.* 2014;12:67–77.
  - van Rijn SJ, Galac S, Tryfonidou MA, et al. The influence of pituitary size on outcome after transsphenoidal hypophysectomy in a large cohort of dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *J Vet Intern Med.* 2016;30(4):989–995.
  - Vaupel P. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Semin Radiat Oncol.* 2004 Jul;14(3):198–206.

- 
- Verganti S, Berlatto D, Blackwood L, et al. Use of Oncept melanoma vaccine in 69 canine oral malignant melanomas in the UK. *J Small Anim Pract.* 2017;58:10–16.
  - Viallard C, Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis [Internet].* 2017 Nov 28;20:409–426.
  - Vogel DW, Zbaeren P, Thoeny HC. Cancer of the oral cavity and oropharynx. *Cancer Imaging.* 2010;10:62–72.
  - Wada M, Hasegawa D, Hamamoto Y, Yu Y, Fujiwara-Igarashi A, Fujita M. Comparisons among MRI signs, apparent diffusion coefficient, and fractional anisotropy in dogs with a solitary intracranial meningioma or histiocytic sarcoma. *Vet Radiol Ultrasound.* 2017;58(4):422–432.
  - Wallace J, Matthiesen DT, Patnaik AK. Hemimaxillectomy for the treatment of oral tumors in 69 dogs. *Vet Surg.* 1992;21:337–341.
  - Wang CC. Accelerated hyperfractionation radiation therapy for carcinoma of the nasopharynx. Techniques and results. *Cancer. United States;* 1989 Jun;63:2461–2467.
  - Wang J, Tang Z, Wang S, Zeng W, Qian W, Wu L, et al. Differential diagnostic value of computed tomography perfusion combined with vascular endothelial growth factor expression in head and neck lesions. *Oncol Lett.* 2016;11(5):3342–8.
  - Weeden AM, Degner DA. Surgical approaches to the nasal cavity and sinuses. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract.* 2016;46(4):719–733.
  - Westworth DR, Dickinson PJ, Vernau W, et al. Choroid plexus tumors in 56 dogs (1985–2007). *J Vet Intern Med.* 2008;22:1157–1165.
  - Wingo K. Histopathologic diagnoses from biopsies of the oral cavity in 403 dogs and 73 cats. *J Vet Dent [Internet].* 2018 Mar 27;35:7–17.
  - Wolff CA, Holmes SP, Young BD, et al. Magnetic resonance imaging for the differentiation of neoplastic, inflammatory, and cerebrovascular brain disease in dogs. *J Vet Intern Med.* 2012;26:589–597.
  - Wolf F, Meier VS, Pot SA, Rohrer Bley C. Ocular and periocular radiation toxicity in dogs treated for sinonasal tumors: A critical review. *Vet Ophthalmol [Internet].* 2020 Apr 12;23:1–15.

- 
- Wong HH, Song CW, Levitt SH. Early changes in the functional vasculature of Walker carcinoma 256 following irradiation. *Radiology* 1973; 108:429–34.
  - Woodruff MJ, Heading KL, Bennett P. Canine intranasal tumours treated with alternating carboplatin and doxorubin in conjunction with oral piroxicam: 29 cases. *Vet Comp Oncol* [Internet]. 2019 Mar 19;17:42–48.
  - Wright ZM, Rogers KS, Mansell J. Survival data for canine oral extramedullary plasmacytomas: a retrospective analysis (1996–2006). *J Am Anim Hosp Assoc* [Internet]. 2008 Mar 1;44:75–81.
  - Xyda A, Haberland U, Klotz E, et al. Diagnostic performance of whole brain volume perfusion CT in intra-axial brain tumors: Preoperative classification accuracy and histopathologic correlation. *Eur J Radiol* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2012;81:4105–4111.
  - Yeung TPC, Bauman G, Yartsev S, Fainardi E, MacDonald D, Lee TY. Dynamic perfusion CT in brain tumors. *Eur J Radiol*. 2015;84:2386-2392.
  - Yeung TPC, Wang Y, He W, et al. Survival prediction in high-grade gliomas using CT perfusion imaging. *J Neurooncol*. 2015;123(1):93-102.
  - Yoon S, Alfajaro MM, Cho K oh, Choi US, Je H, Jung J, et al. Perfusion change in benign prostatic hyperplasia before and after castration in a canine model: Contrast enhanced ultrasonography and CT perfusion study. *Theriogenology*. 2020 Oct;156:97–106.
  - Yoshikawa H, Lafferty MH, Griffin LR, LaRue SM. A retrospective study of sinonasal tumors in 182 dogs treated with stereotactic radiotherapy ( $3 \times 10$  Gy) (2010-2015). *J Vet Intern Med* [Internet]. 2023 Sep 8;1–12.
  - Yoon JH, Feeney DA, Jessen CR, Walter PA. External-beam Co-60 radiotherapy for canine nasal tumors: A comparison of survival by treatment protocol. *Res Vet Sci* [Internet]. 2008 Feb;84:140–149.
  - Young BD, Fosgate GT, Holmes SP, et al. Evaluation of standard magnetic resonance characteristics used to differentiate neoplastic, inflammatory, and vascular brain lesions in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2014;55(4):399-406. doi:10.1111/vru.12137
  - Yuan, Y. Spatial Heterogeneity in the Tumor Microenvironment. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2016;6(8), a026583.

- Zhang SC, Miyamoto SI, Kamijo T, et al. Intratumor microvessel density in biopsy specimens predicts local response of hypopharyngeal cancer to radiotherapy. *Jpn J Clin Oncol.* 2003;33(12):613-619.
  
- Zima A, Carlos R, Gandhi D, Case I, Teknos T, Mukherji SK. Can pretreatment CT perfusion predict response of advanced squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract treated with induction chemotherapy? *Am J Neuroradiol.* 2007;28(2):328–34.
  
- Zwingenberger AL, Pollard RE, Taylor SL, Chen RX, Nunley J, Kent MS. Perfusion and volume response of canine brain tumors to stereotactic radiosurgery and radiotherapy. *J Vet Intern Med.* 2016;30(3):827–35.
  
- Zwingenberger AL, Shofer FS. Dynamic computed tomographic quantitation of hepatic perfusion in dogs with and without portal vascular anomalies. *Am J Vet Res.* 2007;68(9):970–4.