

Ireverzibilna elektroporacija kot metoda ablacije mehkih tkiv: pregled in izzivi pri uporabi v kliničnem okolju

Irreversible electroporation as a novel method for soft tissue ablation: review and challenges in clinical practice

Helena Cindrič, Bor Kos, Damijan Miklavčič

Laboratorij za biokibernetiko, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Korespondenca/ Correspondence:

Damijan Miklavčič, e: damijan.miklavcic@fe.uni-lj.si

Ključne besede:

irreverzibilna elektroporacija; pulzirajoča električna polja; metode ablacije; minimalno invazivno zdravljenje; načrtovanje zdravljenja; numerično modeliranje

Key words:

irreversible electroporation; pulsed electric fields; ablation methods; minimally invasive treatments; treatment planning; numerical modelling

Prispelo: 21. 2. 2020
Sprejeto: 20. 7. 2020



Izvleček

Koncept ireverzibilne elektroporacije kot samostojne ablacijske metode so prvič predstavili pred petnajstimi leti. Irreverzibilna elektroporacija je alternativna metoda uveljavljenim termičnim ablacijskim metodam, saj mehanizem uničevanja celic ni odvisen od dviga temperature. Zaradi netermičnega načina delovanja se zaenkrat uporablja predvsem v primerih, pri katerih uporaba termične ablacije ni mogoča zaradi nevarnosti, da se poškodujejo bližnje občutljive anatomske strukture ali se učinkovitost ablacije zmanjša zaradi odvajanja toplote (t. i. *heat sink* učinek). Trenutno se ireverzibilna elektroporacija v medicini uporablja predvsem za odstranjevanje globlje ležečih tumorjev, na primer v jetrih, prostati in ledvicah. V zadnjih letih je veliko zanimanja vzbudila tudi uporaba metode v srcu, in sicer za zdravljenje različnih motenj srčnega ritma. Ker je ablacija z ireverzibilno elektroporacijo sorazmerno nova tehnologija, še vedno ni standardnih protokolov zdravljenja in postopkov za načrtovanje zdravljenja. Numerične metode so nepogrešljivo orodje pri preučevanju pojava elektroporacije in pri pripravi bolnikom prilagojenih načrtov zdravljenja. Prispevek pregledno prikazuje dosedanje uporabo ireverzibilne elektroporacije v kliničnem okolju, povzema prednosti in osvetljuje glavne probleme pri uvajanju te obetavne ablacijske metode v klinično prakso.

Abstract

Irreversible electroporation has been evaluated as a novel method for ablation of various soft tissues for the last fifteen years. This method presents an alternative to the established thermal ablation methods due to its predominantly non-thermal mechanism of cell kill. It is currently mostly used for treating patients in whom the application of thermal ablation is contraindicated due to risk of thermal damage to sensitive nearby structures, or when the presence of heat sinks reduces ablation efficacy. The main medical application of irreversible electroporation has until recently been ablation of deep seated tumours, e.g. in the liver, prostate and kidney, however, in the last few years its potential for the treatment of various arrhythmias has sparked great interest. Since irreversible electroporation is still a relatively new method, there is a lack of standardized treatment protocols and planning procedures for use in clinical setting. Numerical modelling has proven to be an indispensable tool in investigating and designing electroporation-based treatments and preparing patient-specific treatment plans. In this paper the most recent developments in clinical use of irreversible electroporation ablation are summarized and its major advantages as well as challenges and possible drawbacks in introducing this novel ablation method into clinical routine are highlighted.

Citirajte kot/Cite as: Cindrič H, Kos B, Miklavčič D. Ireverzibilna elektroporacija kot metoda ablacije mehkih tkiv; pregled in izzivi pri uporabi v kliničnem okolju. Zdrav Vestn. 2021;90(1-2):38–53.

DOI: <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.2954>



Avtorske pravice (c) 2021 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

1 Uvod

1.1 O elektroporaciji

Elektroporacija (imenovana tudi elektropermeabilizacija) je pojav, pri katerem s kratkimi visokonapetostnimi električnimi pulzi začasno spremenimo strukturo celične membrane. Pod vplivom električnega polja se prerazporedijo membranski lipidi, nastanejo t. i. hidrofilne pore ter kemične reakcije na lipidih in transportnih proteinih, kar poveča prepustnost in omogoči prehod različnim snovem, ki sicer težko ali pa sploh ne prehajajo preko membrane (1-4). Z ustrezno izbiro parametrov električnih pulzov, to je številom in trajanjem pulzov, dinamiko dovajanja pulzov ter amplitudo dovajane napetosti je lahko pojav elektroporacije reverzibilen ali pa ireverzibilen. Pri reverzibilni elektroporaciji se membrane celic sorazmerno hitro povrnejo v prvotno stanje, zato dolgoročno gledano s posegom ne zmanjšamo celične sposobnosti za njeno delitev in delovanje. Pri ireverzibilni elektroporaciji pa zaradi predolge izpostavljenosti polju celica izgubi funkcionalnost in odmre (proces, soroden apoptozi) (4-7).

Tako reverzibilna kot ireverzibilna elektroporacija ponujata možnosti na številnih področjih – od medicine in biotehnologije do obdelave živil ter lesa (5,8,9). Največ zanimanja pa vzbuja prav uporaba v medicini (10). Reverzibilna elektroporacija je zanimiva predvsem s stališča vnosa različnih molekul v celice,

pri čemer je ena od aplikacij elektroterapije, pri kateri z reverzibilno elektroporacijo tumorja omogočimo prenos nekaterih kemoterapevtikov (bleomicin in cisplatin) v rakave celice in s tem močno povečamo njihovo citotoksičnost (11-14). V nasprotju z elektroterapijo, pri kateri želimo ohraniti membrane celic, pa pri ireverzibilni elektroporaciji stremimo k neposrednemu uničenju celic z električnim poljem. Ireverzibilna elektroporacija (IRE) se uporablja predvsem za ablacijo različnih rakavih tkiv oz. tumorjev (5,7,15-19), v zadnjem času pa tudi za ablacijo v srcu za zdravljenje motenj srčnega ritma (20-23).

1.2 Ireverzibilna elektroporacija v medicini

Koncept uporabe ireverzibilne elektroporacije kot samostojne metode ablacije tkiva so leta 2005 prvič predstavili Davalos in sodelavci v (7). Na primeru matematičnega modela so pokazali, da ireverzibilna elektroporacija omogoča uničenje tarčnega tkiva, pri čemer, v primerjavi z ostalimi uveljavljenimi ablaacijskimi metodami, tkiva ne segreva in tako ne povzroča termičnih poškodb. Netermični mehanizem uničevanja celic je hitro vzbudil precej zanimanja v raziskovalnih skupinah, zato so sledile številne študije *in vitro* ter študije na živalskih modelih *in vivo*. Poznejše raziskave so pokazale, da je v neposredni

bližini elektrod vseeno prisotna termična komponenta, ki je posledica visoke gostote tokov in povečanja električne prevodnosti tkiva zaradi elektroporacije (24-26). Kljub temu pa ob pravilni uporabi predstavljajo termične poškodbe majhen delež celičnih smrti, ker je mehanizem delovanja te nove metode ablacije pretežno netermičen (26).

Leta 2010 sta bili objavljeni prvi klinični študiji ablacije IRE, in sicer v prostati (27) in v ledvicah (28), ki sta poudarjali predvsem varnost posega. V naslednji letih so sledile številne klinične raziskave za odstranitev globlje ležečih tumorjev v različnih organih, in sicer v prostati (27,29-33), ledvicah (28,34,35), jetrih (36-42), trebušni slinavki (43-46) ter pljučih (do sedaj neuspešno) (47,48). V zadnjih letih so poleg uporabe v onkologiji začeli raziskovati tudi možnosti uporabe IRE v srcu, in sicer za izoliranje pljučnih ven pri zdravljenju fibrilacije preddvorov (AF) (20-22,49) in za ablacijo Purkinjevih vlaken pri zdravljenju prekatne fibrilacije (23).

Ireverzibilna elektroporacija kot ablacijska metoda ima pred termičnimi metodami številne prednosti, ki omogočajo njeno uporabo v primerih, kadar termične poškodbe okoliških tkiv niso sprejemljive, npr. v neposredni bližini žolčnega kanala, ali ko ablacije s termičnimi ablacijskimi tehnikami ne moremo zanesljivo izvesti npr. zaradi bližine večjih žil (10,19,26,36,41,50-52). Ker metoda ni odvisna od temperature, ni občutljiva na odvajanje toplote v bližini žil (*angl.* heat sink), kar je pogosta težava pri termičnih metodah ablacije. Pomembna lastnost ireverzibilne elektroporacije je tudi, da uniči le membrane živih celic, preostale strukture in proteini v medceličnem prostoru pa ostanejo nepoškodovani, kar izboljša integriteto poškodovanega tkiva, zmanjša brazgotinjenje in

omogoča hitrejšo obnovo tkiva (53). Pomembno vlogo pri antitumorskem učinku ireverzibilne elektroporacije ima tudi sodelovanje imunskega sistema. Delež celic v neposredni bližini elektrod namreč odmre zaradi termičnih poškodb (nekroza), kar spodbudi lokalni imunski odziv in s tem pospeši odstranjevanje rakavih celic (54,55). Danes se za ablacijo mehkih tkiv rutinsko še vedno uporabljajo termične tehnike, kot so ablacija z radio-frekvencami in mikrovalovi ter krioablacija, vedno bolj pa se povečuje zanimanje tudi za ablacijo z ireverzibilno elektroporacijo.

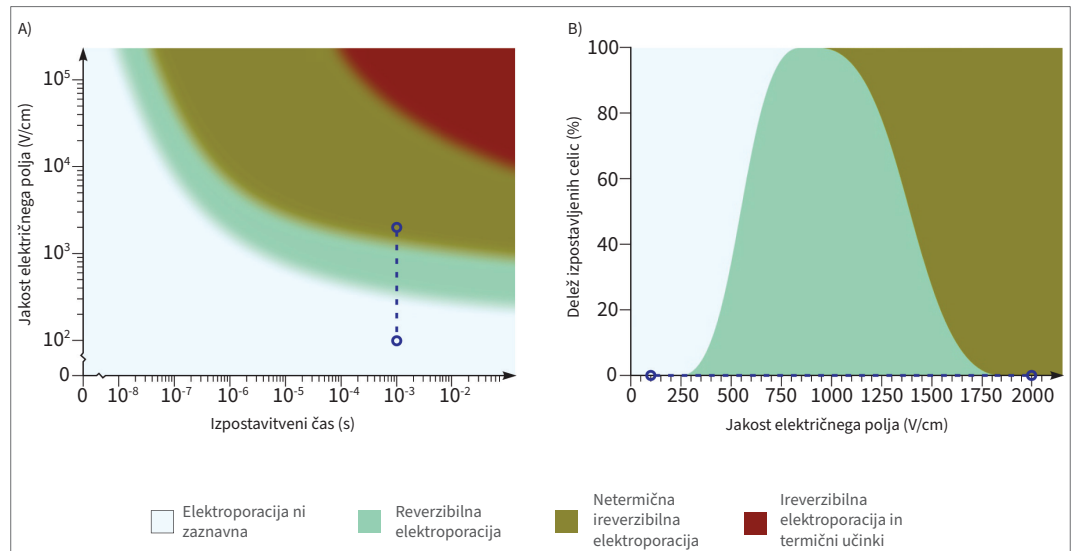
2 Tehnični vidiki ablacije z ireverzibilno elektroporacijo

Pri ireverzibilni elektroporaciji streмимо k popolnemu uničenju celic v tarčnem tkivu. Učinkovitost ablacije je neposredno povezana z jakostjo lokalnega električnega polja v tkivu in s časom izpostavitve polju (Slika 1).

Na jakost električnega polja v prvi vrsti vpliva amplituda pulzov, odvisna pa je tudi od dimenzij elektrod (premer in dolžina elektrode), od razmika med elektrodama v paru in od (električnih in toplotnih) lastnosti biološkega tkiva. Poleg tega na stopnjo elektroporacije tkiva vpliva tudi dinamika dovajanja pulzov (trajanje pulzov in hitrost dovajanja pulzov). Določitev optimalnih parametrov za ireverzibilno elektroporacijo je predmet intenzivnih raziskav, saj se parametri pulzov razlikujejo od posamezne aplikacije in od tarčnega tkiva/organa.

2.1 Ablacija globlje ležečih tumorjev

Pri ablaciji globlje ležečih tumorjev se za dovajanje visokonapetostnih električnih pulzov uporabljajo dolge

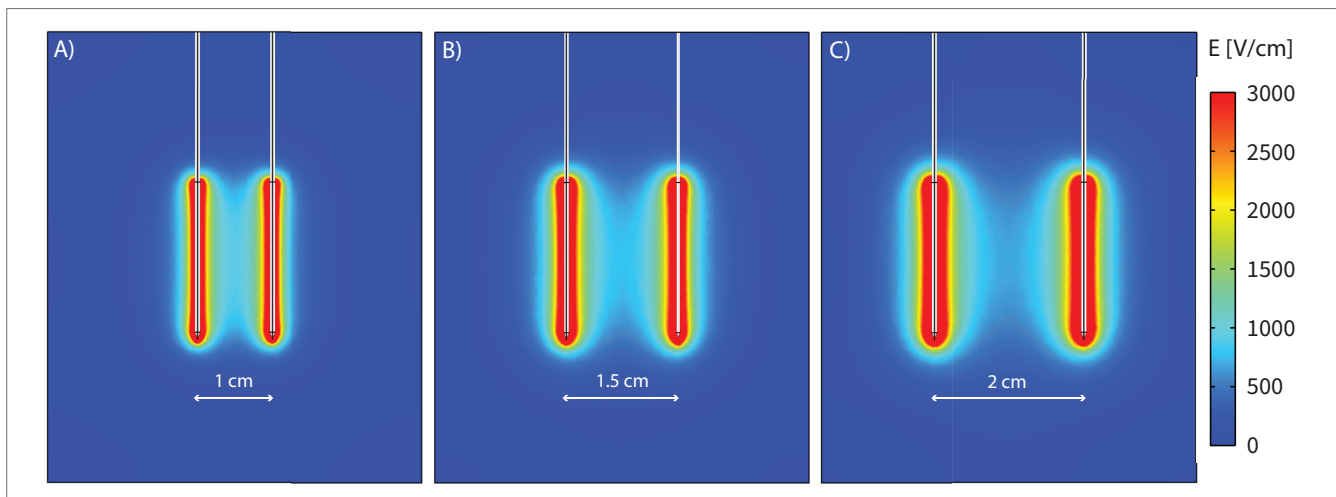


Slika 1: A) Reverzibilna elektroporacija, ireverzibilna elektroporacija in termični učinki elektroporacije so odvisni tako od jakosti električnega polja kot od časa izpostavitve (odvisen od trajanja in števila dovedenih električnih pulzov). V tkivu tako lahko dosežemo enak učinek s krajšim izpostavitvenim časom in višjo jakostjo električnega polja ali z daljšim izpostavitvenim časom in nižjo jakostjo električnega polja. B) Pri izbranem trajanju električnih pulzov (primer za 1-milisekundne pulze – črtkana črta na panelih A in B) delež reverzibilno in ireverzibilno elektroporiranih celic narašča z jakostjo električnega polja. Slika je povzeta po Yarmush ML, et al (8).

monopolarni igelne elektrode. Število in postavitev uporabljenih elektrod sta odvisni od velikosti tumorja. Značilna je uporablja od dveh do šestih elektrod, ki so postavljene čim bolj vzporedno druga drugi in so razporejene okoli tumorja. Po potrebi se ena ali več elektrod lahko nahajajo tudi v tumorju. Elektrode imajo nastavljivo dolžino, vendar se v praksi bolj ali manj uporablja dolžina 2 cm, saj daljše elektrode »zahtevajo« prevelik električni tok. Električne pulze dovajamo posameznim parom elektrod tako, da zaporedoma pokrijemo celotno tarčno prostornino, to je prostornino tumorja z varnostnim pasom. Širina varnostnega pasu je odvisna od tipa tumorja in se navadno razteza od 5–10 mm od roba tumorja. Pri večjih tumorjih lahko elektrode med terapijo tudi izvlečemo (15–20 mm), s čimer tarčno prostornino pokrijemo v segmentih. Parametri električnih pulzov in protokoli dovajanja se med

študijami sicer precej razlikujejo, vendar se najpogosteje uporablja vlak 70–100 električnih pulzov na par elektrod, trajanje posameznih pulzov v vlakcu pa je tipično 90 μ s (50–100 μ s) (18,37,45). Za določitev amplitude se večinoma uporablja razmerje med napetostjo in razdaljo med elektrodama v paru, ki pa je od študije do študije različno, saj je med drugim odvisno tudi od vrste tarčnega tkiva. V objavljenih študijah *in vivo* zasledimo uporabo razmerij 1000–2500 V/cm (18).

V literaturi se razmerje napetosti in razdalje med elektrodama (razmerje V/d z enoto V/cm), ki se uporablja za določitev napetosti na elektrodah, pogosto zamenjuje s pragom električnega polja, ki je potrebno za ireverzibilno elektroporacijo tarčnega tkiva. Električno polje v tkivu je odvisno od električnih lastnosti in od strukture tkiva. Tkivo (in s tem električna prevodnost) je v osnovi



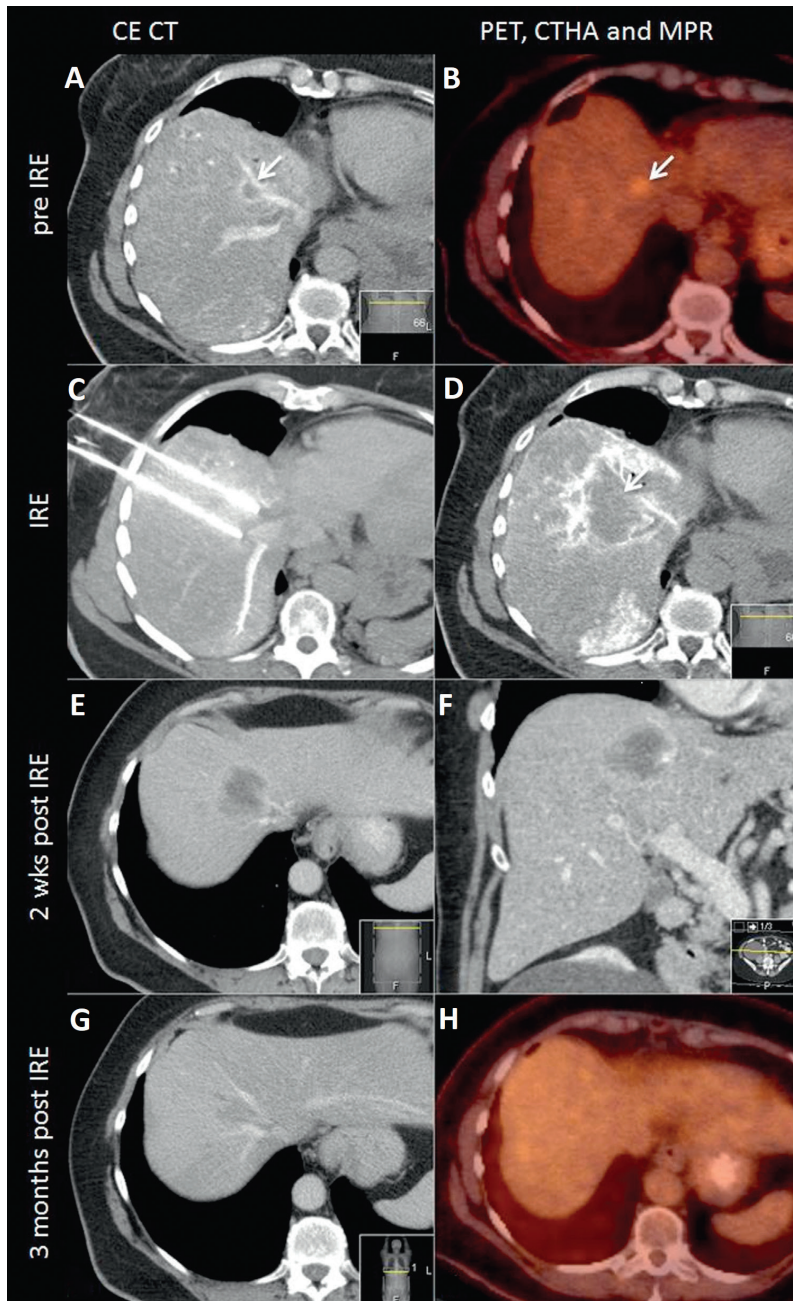
Slika 2: Primer razporeditve električnega polja v homogenem tkivu pri različnih razdaljah med igelnima elektrodama (1 cm, 1,5 cm in 2 cm) ter pri enakem razmerju med napetostjo in razdaljo $V/d = 1500 \text{ V/cm}$. Zaradi boljše vidljivosti se barvna lestvica omejuje na območje do 3000 V/cm . Električno polje ni homogeno in je v neposredni bližini elektrod zelo visoko (tudi do $10\,000 \text{ V/cm}$), a z razdaljo od elektrod hitro upada in na sredini med elektrodama znaša od $500\text{--}1000 \text{ V/cm}$. Razporeditev električnega polja je odvisna tudi od postavitve elektrod. Pri istem razmerju V/d je polje pri razdalji 1 cm na sredini med elektrodama skoraj homogeno (A), medtem ko z naraščanjem razdalje postaja vedno bolj nehomogeno (B, C).

nehomogeno, poleg tega pa se med posegom prevodnost še dinamično spreminja tako zaradi elektroporacije kot zaradi segrevanja (56,57). Dejansko je polje v bližini elektrod zaradi velike tokovne gostote zelo visoko (tudi 10000 V/cm), medtem ko z večanjem razdalje od elektrod drastično pada in je v večini tarčnega volumna nižje, kot je izbrano razmerje V/d (Slika 2). Zato za določitev napetosti na elektrodah uporabljajo visoke vrednosti, npr. 1500 V/cm , čeprav je prag električnega polja, pri katerem pride do ireverzibilne elektroporacije, v resnici le okoli $500\text{--}700 \text{ V/cm}$ (odvisno od vrste tkiva in števila dovajanih pulzov).

Načrtovanje in postavitve elektrod v praksi večinoma še vedno poteka ročno. Intervencijski radiolog na podlagi bolnikovih predintervencijskih slik določi položaje in trajektorije za vstavev elektrod. Vstavitev elektrod nato poteka prostoročno s pomočjo kontrastno

ojačenega ultrazvoka, npr. pri ablaciji v prostati, ali pa s pomočjo intervencijskih računalniško tomografskih (CT) slik, npr. pri zdravljenju tumorjev v jetrih in trebušni slinavki. Končne položaje elektrod nato vnesejo v napravo *NanoKnife*, ki prikaže shematsko obliko ablacijske cone glede na izbrane parametre električnega polja (razmerje med napetostjo in razdaljo na elektrodah). Igelne elektrode so dolge in tanke (premer $0,8\text{--}1,2 \text{ mm}$) in se pri vstavitvi pogosto upognejo. Zato je izredno težko doseči popolnoma vzporedno postavitev.

NanoKnife (AngioDynamics, Latham, New York, ZDA) je trenutno edina komercialno dostopna naprava za ireverzibilno elektroporacijo in narekuje večino protokolov v kliničnih študijah. Proizvajalec za določitev amplitude napetosti na paru elektrod priporoča razmerje med napetostjo in razdaljo med elektrodama 1500 V/cm . Maksimalna napetost, ki jo *NanoKnife* lahko dovede,



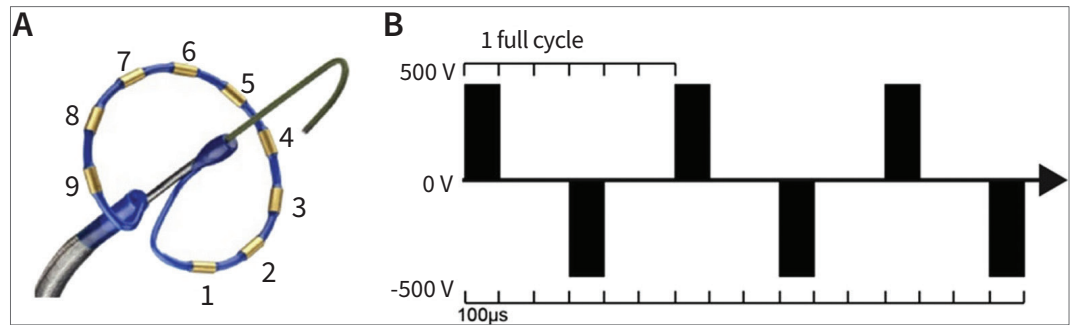
Slika 3: Primer minimalno invazivnega posega – ablacija IRE kolorektalnih metastaz v jetrih. A, B) Predintervencijski sliki prikazujeta tumor (puščica) v bližini hepatične in portalne vene ter žolčnega kanala. C) Igelni elektrodi za elektroporacijo sta vstavljeni perkutano s pomočjo vodenja s CT. D) Slika, zajeta neposredno po posegu, prikazuje značilno hipointenzivno območje ablacije s hiperintenzivnim robom. E, F) Na slikah dva tedna po posegu je vidna skrčitev področja ablacije. G, H) Tri mesece po posegu je področje ablacije na CT s kontrastnim sredstvom komaj vidno, na slikah PET CT pa ni zaznane presnovne aktivnosti v področju spremembe. Slika je povzeta po Scheffer HJ, et al (19).

znaša 3000 V, zato smo pri postavitvi elektrod omejeni na razdalje do največ 2 cm, če želimo ohraniti razmerje 1500 V/cm. Poleg tega smo omejeni tudi z maksimalnim električnim tokom, ki ga naprava še dopušča. Če amplituda električnega toka v paru elektrod preseže 50 A, se dovajanje pulzov avtomatsko prekine. Napetost je nato treba ustrezno znižati in postopek ponoviti. Visokonapetostni električni pulzi lahko povzročijo srčno aritmijo, zato pulze dovajamo v fazi absolutne refrakcijske dobe (58,17). Dovajanje pulzov se tako vedno sinhronizira z bolnikovim elektrokardiogramom, in sicer ne glede na izbrani protokol dovajanja. *NanoKnife* električne pulze dovaja v sekvencah po deset pulzov, vmes sledi premor, med katerim se naprava spet napolni. Elektroporacijski pulzi povzročajo tudi močne mišične kontrakcije, zato je potrebno popolno farmakološko paraliziranje bolnika ter splošna anestezija.

Ablacija globlje ležečih tumorjev z ireverzibilno elektroporacijo se lahko izvaja z operacijo ali perkutano. Perkutani postopek je minimalno invaziven in močno skrajša čas hospitalizacije in okrevanja bolnika, vendar je tehnično veliko bolj zahteven. Izredno pomembno je, da igelne elektrode vstavimo natančno v skladu z načrtom pred posegom. Vstavev elektrod lahko poteka prostoročno pod vodenjem CT ali pa z uporabo navigacijskih sistemov, ki so trenutno na voljo za izvajanje perkutanih terapij (59-61). Slika 3 prikazuje primer minimalno invazivnega zdravljenja kolorektalnih metastaz v jetrih z ablacijo IRE.

2.2 Ablacija srčne mišice

Trenutno ena bolj obetavnih aplikacij ireverzibilne elektroporacije je izolacija



Slika 4: A) Krožni kateter z oštevilčenimi elektrodami za ablacijo pljučnih ven; B) shematski prikaz treh bipolarnih pulzov za ablacijo pljučnih ven s krožnim katetrom. Slika je povzeta po Stewart MT, et al (22).

pljučnih ven za zdravljenje AF. Kateterska ablacija miokarda preddvora na stičišču s pljučnimi venami je uveljavljena metoda zdravljenja AF, pri čemer se uporabljata predvsem radiofrekvenčna (RF) ablacija in krioablacija.

Glavni slabosti RF ablacije sta omejen nadzor nad širjenjem toplote v tkivu (in s tem povečano tveganje za poškodovanje netarčnega tkiva) ter diskontinuitete v ablaacijski coni. Poleg tega je postopek precej dolgotrajen in zahteva izkušenega kardiologa oziroma elektrofiziologa, saj je treba RF elektrodo ročno premikati po obodu pljučne vene. Ireverzibilna elektroporacija omogoča dober nadzor nad globino ablaacijske cone, uspeh ablacije pa ni odvisen od akumulacije toplote v tkivu. V primerjavi z RF ablacijo je postopek IRE precej hitrejši, saj po namestitvi krožnega katetra dovajanje pulzov traja le nekaj sekund. Pri obeh termičnih ablaacijskih tehnikah (RF in krioablacija) se tarčno tkivo ablacije nahaja zunaj pljučnih ven v izogib brazgotinjenju ven-skih sten in s tem tveganju za nastanek stenoze pljučnih ven. Ireverzibilna elektroporacija ohranja strukturo medceličnega prostora in s tem zmanjša brazgotinjenje tkiva. Zato omogoča ablacijo tudi neposredno na stičišču z venami brez nevarnosti za nastanek stenoze (62).

Kateterska ablacija srčne mišice z

ireverzibilno elektroporacijo je trenutno še v fazi razvoja. V številnih predkliničnih in prvi klinični raziskavi (20) so bile preizkušene različne oblike katetrov, od balonskega katetra (62) do različnih oblik katetrov z bipolarnimi elektrodami in bifaznimi pulzi (20). Eden bolj obetavnih katetrov je krožni kateter z devetimi elektrodami (Slika 4) (22,49). Optimalni parametri električnih pulzov so še vedno predmet raziskav, vendar splošni zaključki nakazujejo, da bipolarna konfiguracija elektrod v katetru (izmenično pozitivne in negativne elektrode) in aplikacija kratkih bifaznih pulzov omogočata najboljši nadzor nad velikostjo ablaacijske cone in zmanjšata intenziteto mišičnih kontrakcij.

2.3 Načrtovanje posega

Tehnološki napredek, predvsem s slikovnim vodenjem procesov, danes omogoča minimalno invazivne posege, ki močno skrajšajo čas hospitalizacije in izboljšajo bolnikovo kakovost življenja v času okrevanja. Pri minimalno invazivnih posegih, še posebej pri globlje ležečih tumorjih, smo omejeni glede vstavljanja elektrod, saj moramo preprečiti mehanske poškodbe kritičnih anatomskih struktur. Prvi korak pri načrtovanju zdravljenja je tako določitev

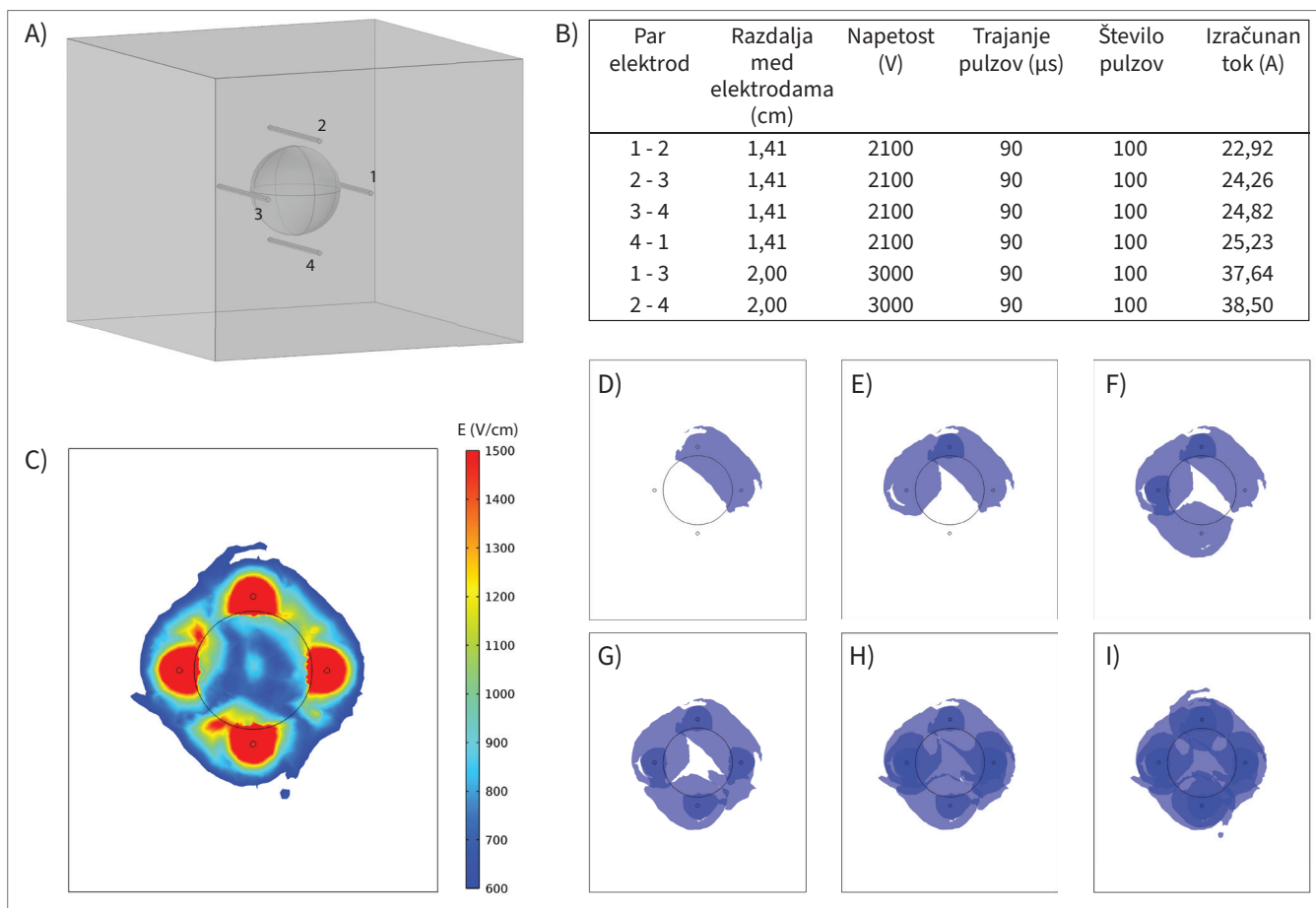
vstavitvene trajektorije elektrod, pri čemer moramo upoštevati navodila proizvajalca naprave, da morajo biti elektrode čim bolj vzporedno druga z drugo, saj lahko le tako do neke mere nadzorujemo razporeditev in homogenost električnega polja v tkivu. V drugem koraku moramo določiti optimalno število in postavitev elektrod ter optimalne parametre električnih pulzov, in sicer tako, da zagotovimo dovolj visoko električno polje v celotni tarčni prostornini tkiva, hkrati pa ne poškodujemo bližnjih kritičnih anatomskih struktur. Poleg tega smo omejeni z zmožnostmi klinično dostopnih pulznih generatorjev – z omejitvijo električnega toka in napetosti.

Naprava *NanoKnife* sicer omogoča shematski prikaz pričakovane ablacijske cone glede na izbrano postavitev elektrod in parametre pulzov, vendar pri tem predpostavlja, da je tumor pravilno okrogle oblike in ne upošteva lokalne prerazporeditve električnega polja zaradi variabilnosti biološkega tkiva. Poleg tega *NanoKnife* tridimenzionalno postavitev elektrod prevede v dve dimenziji, zato je ablacijska cona predstavljena le v ravnini, ki je pravokotna na elektrode. Napetost na elektrodah se izračuna avtomatsko glede na želeno razmerje med napetostjo in razdaljo. Primernost izračunanih parametrov se preveri z meritvijo toka na začetku posega. Vsakemu paru elektrod najprej dovajajo 10–20 testnih pulzov. Če je izmerjeni tok v območju 20–30 A, so parametri primerni, zato lahko sledi dovajanje preostalih pulzov. Če je vrednost toka višja oziroma nižja, je treba ustrezno prilagoditi napetosti ali postavitev elektrod.

Načrtovanje ablacije IRE zgolj na podlagi električnega toka ni zanesljivo, zato se v zadnjih letih aktivno razvijajo programska orodja in aplikacije za pravo celostnih načrtov pred posegom.

Priprava načrta zdravljenja temelji na numerični simulaciji posega (37,63–65). Načelo modeliranja ablacije z ireverzibilno elektroporacijo je predstavljeno na poenostavljenem teoretičnem modelu tumorja v jetrih (Slika 5 / A). Model sestavljata dve tkivi, in sicer parenhim jeter in okrogel tumor s premerom 16 mm. Okoli tumorja so razporejene štiri igelne elektrode v konfiguraciji kvadrata, največja razdalja med elektrodama pa znaša 20 mm. Elektrode skupaj tvorijo šest aktivnih parov za ablacijo. Parametri električnih pulzov v modelu so izbrani v skladu s priporočili proizvajalca naprave *NanoKnife*, in sicer 100 pulzov na par elektrod v trajanju 90 μ s ter razmerje med napetostjo in razdaljo med elektrodami 1500 V/cm (Slika 5 / B). Dinamika dovajanja je, kakor sledi: električni pulzi se dovajajo s frekvenco 1 Hz v vlaklu po 10 pulzov, med posameznimi vlaki pa nastopi 3-sekundni premor, ki je čas za polnjenje pulznega generatorja. S poenostavljenim modelom lahko hitro preverimo ustreznost izbranih parametrov pulzov ter postavitev elektrod. Za vsak aktivni par elektrod posebej izračunamo prostorsko porazdelitev električnega polja, prispevke posameznih parov pa na koncu združimo v končno porazdelitev polja oziroma pokritje (Slika 5 / C). Pri izbranih parametrih modela smo privzeli prag za ireverzibilno elektroporacijo tumorja 600 V/cm (37). Z analizo prispevka posameznih parov elektrod k celotnemu pokritju tarčne prostornine lahko optimiziramo parametre ablacije. Na slikah 5 / D–I vidimo, da s prvimi štirimi pari pokrijemo 75 % prostornine tumorja, s petim parom pa že dosežemo 100-odstotno pokritje.

V modelu poleg razporeditve električnega polja izračunamo tudi segrevanje tarčnega tkiva zaradi joulskih izgub. Na Sliki 6 / A je prikazana izračunana

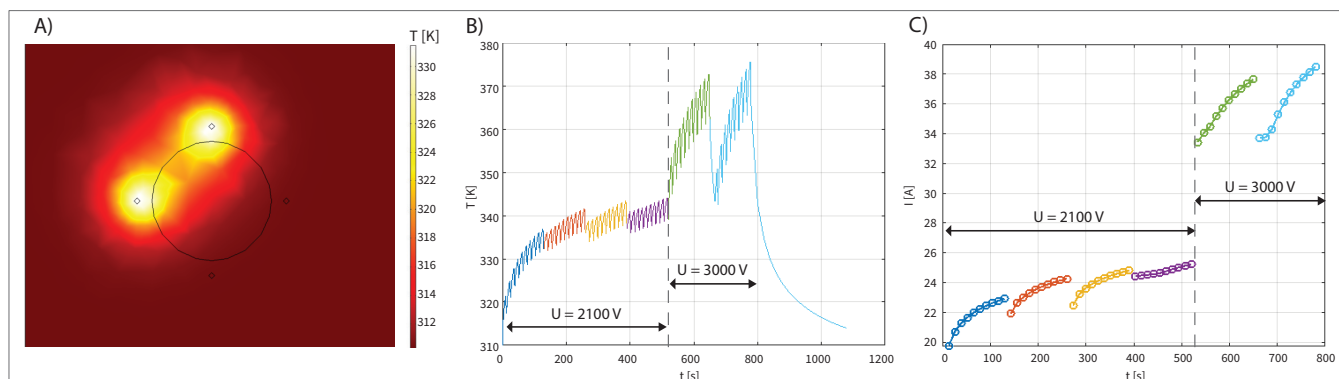


Slika 5: A) Poenostavljen numerični model tumorja v jetrih, obdan s štirimi igelnimi elektrodami. B) Izbrani parametri električnih pulzov za šest aktivnih parov elektrod v modelu. C) Končna razporeditev električnega polja v tkivu. Viden je okrogel obris tumorja. Zaradi boljše vidljivosti je barvna lestvica prilagojena na območje od 600 do 1500 V/cm. D / I) Pri izbranih parametrih modela je prag za ireverzibilno elektroporacijo tumorja približno 600 V/cm. Slike D / I prikazujejo prispevke posameznih parov elektrod k celotnemu pokritju tarčnega tkiva z električnim poljem, večjim od 600 V/cm. Vidimo, da je celotna prostornina tumorja pokrita že s prispevki prvih petih parov.

temperatura v tkivu po sprožitvi 100 pulzov na prvi par elektrod. Vidimo, da temperatura močno naraste že pri prvem paru, sledi pa dovajanje pulzov še na nadaljnjih 5 parov. [Slika 6](#) / B prikazuje najvišjo izračunano temperaturo v tkivu za vseh 6 parov elektrod. Z višanjem temperature tkiva se večja električna prevodnost tkiva, s tem pa tudi električni tok ([Slika 6](#) / C). Iz končne razporeditve električnega polja na [Sliki 5](#) / C je razvidno, da je celoten tumor pokrit s poljem, višjim od privzetega praga za IRE (600 V/cm). Parametre bi lahko nadalje

optimizirali, s čimer bi omejili segrevanje tkiva in s tem tveganje za nastanek nezaželenih termičnih poškodb.

Pri pripravi dejanskega bolnika prilagojenega načrta za poseg uporabimo bolnikove predintervencijske slike, na podlagi katerih izdelamo poenostavljen, a anatomsko pravilen, numerični model tarčnega organa/tkiva. V modelu nato z izračuni razporeditve električnega polja in z optimizacijo postavitve in napetosti na elektrodah določimo načrt posega ([66](#)). Načrt zdravljenja pred operacijo je nato potrebno na dan posega prenesti v



Slika 6: A) temperatura v tkivu po prvih 100 pulzih; začetna temperatura tkiva je 310 K oz. 37 °C. B) Maksimalna temperatura v tkivu, izračunana po vsakem posameznem vlak 10 pulzov. C) Dvig temperature preko spremembe prevodnosti povzroči naraščanje električnega toka v tkivu.

domeno intervencijskih slik, kar zahteva poravnavo tridimenzionalnih predintervencijskih in intervencijskih slik v isti koordinatni sistem (67). Poravnava slik je izredno zahteven postopek, še posebej pri mehkih tkivih, kjer so pogosto prisotne deformacije. Poleg vprašljive natančnosti poravnave je problematična tudi časovna zahtevnost, saj je postopek poravnave zaenkrat še vedno preveč dolgotrajen za uvedbo v klinično rutino (60). Načrti pred operacijo zato trenutno služijo bolj kot opora pri izvedbi dejanskega posega.

2.4 Termični vidiki ireverzibilne elektroporacije

Učinkovitost ablacije z ireverzibilno elektroporacijo ni odvisna od temperature, zato se metoda pogosto označuje kot netermična metoda ablacije, kar lahko vodi do zmotnega mnenja, da pri IRE sploh ne pride do segrevanja tkiva. Mehka tkiva so precej dobri prevodniki, njihova električna prevodnost pa se med elektroporacijo še poveča, kar lahko povzroči precej visoke električne tokove in s tem joulsko segrevanje okoliškega tkiva. Dvig temperature je najbolj očiten v neposredni bližini elektrod, kjer

temperatura preseže 60 °C, kar tudi pri krajših izpostavitvenih časih povzroči koagulacijo celičnih proteinov in s tem takojšnjo celično smrt. Pri daljših izpostavitvah pa lahko celična smrt nastopi že pri temperaturi 43 °C. Naraščanje temperature je sorazmerno s številom električnih pulzov in s frekvenco dovajanja. Pri večjih tumorjih, kjer je uporabljenih veliko elektrod in katerih deleži se med seboj prekrivajo, lahko kumulativno v tkivo lokalno dovedemo več sto pulzov, kar lahko pripelje do visokih temperatur v celotnem tarčnem tkivu, s čimer izgubimo netermičnost IRE. Eden od razlogov za izbiro ablacije IRE pred termičnimi metodami je uporaba na mestih oz. organih, kjer termične poškodbe niso sprejemljive. V takih primerih je potrebno nadzorovati temperaturo v tkivu oziroma pri pripravi načrta pred operacijo. V izračunih se mora upoštevati tudi segrevanje in ohlajanje tkiva ter dinamika dovajanja pulzov.

V numeričnem modelu upoštevamo spremembo prevodnosti medija tako zaradi elektroporacije kot zaradi segrevanja. Na Sliki 6 / C je prikazano naraščanje električnega toka kot posledica segrevanja za vsak aktivni par elektrod posebej. Čeprav je razmerje V/d pri vseh parih

enako, vidimo, da se pri parih z nižjo napetostjo tok po aplikaciji vseh 100 pulzov poveča za približno 3 A, medtem ko pri parih z višjo napetostjo tok naraste za 5–6 A. V literaturi pogosto navajajo naraščanje toka kot enega od kazalcev uspešne ireverzibilne elektroporacije, čeprav je v resnici dejavnikov za to povečanje več; med drugim, kot vidimo na [Sliki 6](#), tudi naraščanje temperature tkiva, ki med IRE nikakor ni zanemarljivo.

3 Izzivi pri uvajanju ireverzibilne elektroporacije v klinično okolje

Čeprav se je ireverzibilna elektroporacija izkazala kot obetavna alternativa obstoječim metodam ablacije različnih mehkih tkiv, pa je pri uvajanju v klinično okolje potrebno rešiti še precej problemov.

Eden ključnih izzivov je pomanjkanje kazalca o tehničnem uspehu ireverzibilne elektroporacije med ali neposredno po posegu. IRE povzroči takojšen edem v tkivu, zato slikanje neposredno po posegu ne poda zanesljive informacije o področju ablacije. Zaradi regeneracije tkiva po IRE (in s tem povezanega krčenja) je na pooperativnih slikah težko z gotovostjo razmejiti področje ablacije, kar otežuje razvijanje in validacijo numeričnih modelov za načrtovanje posegov ([68,69](#)).

V študijah zadnjih nekaj let pogosto zasledimo povečanje električnega toka kot merilo za uspešno ireverzibilno elektroporacijo. Martin in sodelavci v študiji ablacije IRE v trebušni slinavki navajajo, da se pri uspešni IRE tkiva električni tok poveča za vsaj 12 A ([45](#)). Če pri posameznem paru elektrod po uvajanju vseh pulzov ne dosežemo ustreznega povečanja toka, predlagajo dodatnih 70–100 pulzov ([45,70,71](#)).

Tak način »nadzorovanja« ablacije pripelje do velikega števila pulzov in s tem do precejšnjega segrevanja, pri čemer ni dokazano, da dodatno dovajanje pulzov res poveča velikost ablacije ([72](#)). Poleg tega se zaključki raziskave ([45](#)) nanašajo na rezultate ablacije v trebušni slinavki; mehka tkiva imajo raznolike električne lastnosti, zato neposreden prenos zaključkov na druga tkiva brez dodatnih raziskav ni dovolj utemeljen. V raziskavi ([73](#)) so O'Brien in sodelavci preučevali vpliv notranje hlajenih elektrod na učinkovitost in varnost IRE ablacije v jetrih. Rezultati raziskave so pokazali, da z uporabo hlajenih elektrod dosežemo nižje temperature in nižje električne tokove kot pri nehlajenih elektrodah, pri čemer se velikost področja ablacije ne spremeni. Ruarus in sodelavci so v študiji ([74](#)) pokazali, da povečanje toka sicer korelira z uspešnostjo ablacije kolorektalnih metastaz, vendar so le pri 10 % bolnikov opazili povišanje za 12 A. Velikost in povečanje električnega toka sta odvisna od sestave tkiva in tudi od segrevanja – bodisi kot posledica povečanja prevodnosti bodisi zaradi oslabljenega ohlajanja tkiva zaradi lokalne zapore žil, ki je posledica elektroporacije. V numeričnem modelu ([Slika 5 in 6](#)) smo upoštevali dinamične lastnosti tkiv in izračunali naraščanje električnega toka pri ablaciji IRE tumorja v jetrih. Pokazali smo, da lahko kljub nizkemu povečanju električnega toka dosežemo popolno pokritje tarčnega tkiva z varnostnim pasom, kar so v svoji študiji ([74](#)) pokazali tudi Ruarus in sodelavci. Povečanje toka pri ablaciji z IRE lahko služi kot oporna točka, vendar ne predstavlja zanesljive metode za napoved (ne)uspeha zdravljenja; ob neprimerni rabi pa lahko celo vodi do povečanega tveganja za bližnje občutljive anatomske strukture.

Kljub naraščanju števila kliničnih

študij na različnih organih pa še vedno sploh ni raziskav, kjer bi ablacijo IRE izbrali kot primarno metodo zdravljenja. V večini centrov za ablacijo IRE izberejo bolnike, pri katerih so dosedanje metode zdravljenja odpovedale ali pa kako drugače niso primerne. Bolniki, ki sestavljajo vzorec, na katerem so testirali uspeh ablacije IRE, so tako pogosto že prejeli več sistemskih kemoterapij, imajo ponavljajoče se bolezni ali tumorje na težko dosegljivih mestih. Pri primerjavi z ostalimi uveljavljenimi ablacijskimi tehnikami se moramo zato zavedati pristranskosti v škodo ablaciji IRE. Poleg tega trenutno še ni uveljavljenih standardiziranih protokolov za ablacijo IRE, kar vodi do velike variabilnosti med študijami glede uporabljenega števila elektrod, števila in trajanje pulzov, velikosti tarčnega področja itd. Nekonsistentnost v protokolih lahko negativno vpliva na izid zdravljenja, povečuje tveganje za bolnike in zato otežuje nadaljnji razvoj. Objava prvih standardiziranih protokolov zdravljenja z elektrokemoterapijo leta 2006 (75) je npr. močno pospešila razvoj in uvajanje elektrokemoterapije kot nove metode zdravljenja primarnih in sekundarnih tumorjev v klinično prakso. Poenotenje protokolov zdravljenja v različnih kliničnih centrih je razširilo uporabo elektrokemoterapije in prispevalo k novemu znanju, zato je leta 2018 izšla nova, posodobljena in razširjena verzija standardiziranih protokolov (76). Uvajanje podobnih standardiziranih protokolov za ablacijo z ireverzibilno elektroporacijo bi povečalo ponovljivost raziskav

in omogočilo lažje ovrednotenje klinične vrednosti te nove ablacijske metode.

4 Zaključek

Ireverzibilna elektroporacija je alternativna metoda termičnim ablacijskim tehnikam, kot so radiofrekvenčna ablacija, ablacija z mikrovalovi in krioablacija, saj njen mehanizem uničevanja celic ni odvisen od temperature v tkivu. Prav zaradi pretežno netermičnega mehanizma delovanja je še posebej zanimiva za uporabo v organih in na anatomskih mestih, kjer termične poškodbe okoliškega tkiva niso sprejemljive. Številne klinične študije so pokazale uspešnost in varnost ireverzibilne elektroporacije v različnih tkivih/organih, in sicer za odstranjevanje globlje ležečih tumorjev v jetrih, ledvicah, trebušni slinavki in prostati, nekoliko novejše predklinične raziskave pa tudi za izolacijo pljučnih ven pri zdravljenju AF. Glavne smernice za prihodnost narekujejo razvoj standardiziranih protokolov za ablacijo globlje ležečih tumorjev ter razvoj in validacija orodja za načrtovanje zdravljenja pred operacijo. Standardiziranje neposrednega kazalca tehnične uspešnosti ablacije IRE je eden ključnih izzivov pri uvajanju te nove obetavne ablacijske metode v klinično okolje. Kljub izzivom, ki jih je treba premostiti, je ireverzibilna elektroporacija obetavna nova metoda ablacije mehkih tkiv. V prihodnosti lahko tako z gotovostjo pričakujemo nadaljnji razvoj in uporabo ireverzibilne elektroporacije v različnih vejah medicine.

Literatura

1. Neumann E, Rosenheck K. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *J Membr Biol.* 1972;10(3):279-90. DOI: [10.1007/BF01867861](https://doi.org/10.1007/BF01867861) PMID: 4667921
2. Miklavčič D, Puc M. Electroporation. In: *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*. Atlanta, Georgia: American Cancer Society; 2006. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780471740360> DOI: [10.1002/9780471740360.ebs1390](https://doi.org/10.1002/9780471740360.ebs1390)

3. Kotnik T, Pucihar G, Miklavčič D. The Cell in the Electric Field. In: Kee ST, Gehl J, Lee EW. Clinical Aspects of Electroporation. New York (NY): Springer; 2011. pp. 19-29. [cited 2018 Apr 29]. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-8363-3_3 DOI: [10.1007/978-1-4419-8363-3_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8363-3_3)
4. Kotnik T, Rems L, Tarek M, Miklavčič D. Membrane Electroporation and Electroporabilization: mechanisms and Models. *Annu Rev Biophys.* 2019;48(1):63-91. DOI: [10.1146/annurev-biophys-052118-115451](https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-052118-115451) PMID: [30786231](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30786231/)
5. Kotnik T, Frey W, Sack M, Haberl Meglič S, Peterka M, Miklavčič D. Electroporation-based applications in biotechnology. *Trends Biotechnol.* 2015;33(8):480-8. DOI: [10.1016/j.tibtech.2015.06.002](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.002) PMID: [26116227](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26116227/)
6. Rems L, Miklavčič D. Tutorial: electroporation of cells in complex materials and tissue. *J Appl Phys.* 2016;119(20):201101. DOI: [10.1063/1.4949264](https://doi.org/10.1063/1.4949264)
7. Davalos RV, Mir IL, Rubinsky B. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng.* 2005;33(2):223-31. DOI: [10.1007/s10439-005-8981-8](https://doi.org/10.1007/s10439-005-8981-8) PMID: [15771276](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15771276/)
8. Yarmush ML, Golberg A, Serša G, Kotnik T, Miklavčič D. Electroporation-based technologies for medicine: principles, applications, and challenges. *Annu Rev Biomed Eng.* 2014;16(1):295-320. DOI: [10.1146/annurev-bioeng-071813-104622](https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-104622) PMID: [24905876](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24905876/)
9. Mahnič-Kalamiza S, Vorobiev E, Miklavčič D. Electroporation in food processing and biorefinery. *J Membr Biol.* 2014;247(12):1279-304. DOI: [10.1007/s00232-014-9737-x](https://doi.org/10.1007/s00232-014-9737-x) PMID: [25287023](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25287023/)
10. Geboers B, Scheffer HJ, Graybill PM, Ruars AH, Nieuwenhuizen S, Puijk RS, et al. High-Voltage Electrical Pulses in Oncology: Irreversible Electroporation, Electrochemotherapy, Gene Electroporation, Electrofusion, and Electroimmunotherapy. *Radiology.* 2020;295(2):254-72. DOI: [10.1148/radiol.2020192190](https://doi.org/10.1148/radiol.2020192190) PMID: [32208094](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32208094/)
11. Mir LM, Orlowski S, Belehradek J, Paoletti C. Electrochemotherapy potentiation of antitumour effect of bleomycin by local electric pulses. *Eur J Cancer Exf Engl.* 1991;27(1):68-72. DOI: [10.1016/0277-5379\(91\)90064-K](https://doi.org/10.1016/0277-5379(91)90064-K) PMID: [1707289](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1707289/)
12. Serša G, Miklavčič D. electrochemotherapy of Tumours. *J Vis Exp.* 2008(22):1038. DOI: [10.3791/1038](https://doi.org/10.3791/1038) PMID: [19229171](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19229171/)
13. Stepišnik T, Jarm T, Grošelj A, Edhemović I, Djokić M, Ivanecz A, et al. Electrochemotherapy – An effective method for treatment of tumors with combination of chemotherapeutic agent and electric field. *Zdrav Vestn.* 2016;85(1):41-55.
14. Clover AJ, Salwa SP, Bourke MG, McKiernan J, Forde PF, O'Sullivan ST, et al. Electrochemotherapy for the treatment of primary basal cell carcinoma; A randomised control trial comparing electrochemotherapy and surgery with five year follow up. *Eur J Surg Oncol.* 2020;46(5):847-54. DOI: [10.1016/j.ejso.2019.11.509](https://doi.org/10.1016/j.ejso.2019.11.509) PMID: [31862134](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31862134/)
15. Edd JF, Horowitz L, Davalos RV, Mir LM, Rubinsky B. In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2006;53(7):1409-15. DOI: [10.1109/TBME.2006.873745](https://doi.org/10.1109/TBME.2006.873745) PMID: [16830945](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16830945/)
16. Rubinsky B. Irreversible electroporation in medicine. *Technol Cancer Res Treat.* 2007;6(4):255-60. DOI: [10.1177/153303460700600401](https://doi.org/10.1177/153303460700600401) PMID: [17668932](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17668932/)
17. Meijerink MR, Scheffer HJ, Narayanan G. Irreversible Electroporation in Clinical Practice. New york: Springer International Publishing; 2018.
18. Jiang C, Davalos RV, Bischof JC. A review of basic to clinical studies of irreversible electroporation therapy. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2015;62(1):4-20. DOI: [10.1109/TBME.2014.2367543](https://doi.org/10.1109/TBME.2014.2367543) PMID: [25389236](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25389236/)
19. Scheffer HJ, Nielsen K, de Jong MC, van Tilborg AAJM, Vieveen JM, Bouwman ARA, et al. Irreversible electroporation for nonthermal tumor ablation in the clinical setting: a systematic review of safety and efficacy. *J Vasc Interv Radiol.* 2014;25(7):997-1011. DOI: [10.1016/j.jvir.2014.01.028](https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.01.028) PMID: [24656178](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24656178/)
20. Reddy VY, Koruth J, Jais P, Petru J, Timko F, Skalsky I, et al. Ablation of Atrial Fibrillation With Pulsed Electric Fields: An Ultra-Rapid, Tissue-Selective Modality for Cardiac Ablation. *JACC Clin Electrophysiol.* 2018;4(8):987-95. DOI: [10.1016/j.jacep.2018.04.005](https://doi.org/10.1016/j.jacep.2018.04.005) PMID: [30139499](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30139499/)
21. Wittkampf FH, van Es R, Neven K. Electroporation and its Relevance for Cardiac Catheter Ablation. *JACC Clin Electrophysiol.* 2018;4(8):977-86. DOI: [10.1016/j.jacep.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.jacep.2018.06.005) PMID: [30139498](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30139498/)
22. Stewart MT, Haines DE, Verma A, Kirchhof N, Barka N, Grassl E, et al. Intracardiac pulsed field ablation: proof of feasibility in a chronic porcine model. *Heart Rhythm.* 2019;16(5):754-64. DOI: [10.1016/j.hrthm.2018.10.030](https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2018.10.030) PMID: [30385383](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30385383/)
23. Livia C, Sugrue A, Witt T, Polkinghorne MD, Maor E, Kapa S, et al. Elimination of Purkinje Fibers by Electroporation Reduces Ventricular Fibrillation Vulnerability. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(15):e009070. DOI: [10.1161/JAHA.118.009070](https://doi.org/10.1161/JAHA.118.009070) PMID: [30371233](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30371233/)
24. Dunki-Jacobs EM, Philips P, Martin RC. Evaluation of thermal injury to liver, pancreas and kidney during irreversible electroporation in an in vivo experimental model. *Br J Surg.* 2014;101(9):1113-21. DOI: [10.1002/bjs.9536](https://doi.org/10.1002/bjs.9536) PMID: [24961953](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24961953/)

25. Faroja M, Ahmed M, Appelbaum L, Ben-David E, Moussa M, Sosna J, et al. Irreversible electroporation ablation: is all the damage nonthermal? *Radiology*. 2013;266(2):462-70. DOI: [10.1148/radiol.12120609](https://doi.org/10.1148/radiol.12120609) PMID: [23169795](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23169795/)
26. Garcia PA, Davalos RV, Miklavcic D. A numerical investigation of the electric and thermal cell kill distributions in electroporation-based therapies in tissue. *PLoS One*. 2014;9(8):e103083. DOI: [10.1371/journal.pone.0103083](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103083) PMID: [25115970](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25115970/)
27. Onik G, Rubinsky B. Irreversible Electroporation: First Patient Experience Focal Therapy of Prostate Cancer. In: Rubinsky B. *Irreversible Electroporation*. Heidelberg: Berlin: Springer; 2010. pp. 235-47. DOI: [10.1007/978-3-642-05420-4_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-05420-4_10)
28. Pech M, Janitzky A, Wendler JJ, Strang C, Blaschke S, Dudeck O, et al. Irreversible electroporation of renal cell carcinoma: a first-in-man phase I clinical study. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2011;34(1):132-8. DOI: [10.1007/s00270-010-9964-1](https://doi.org/10.1007/s00270-010-9964-1) PMID: [20711837](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20711837/)
29. Onik G, Mikus P, Rubinsky B. Irreversible electroporation: implications for prostate ablation. *Technol Cancer Res Treat*. 2007;6(4):295-300. DOI: [10.1177/153303460700600405](https://doi.org/10.1177/153303460700600405) PMID: [17668936](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17668936/)
30. van den Bos W, Scheltema MJ, Siriwardana AR, Kalsbeek AM, Thompson JE, Ting F, et al. Focal irreversible electroporation as primary treatment for localized prostate cancer. *BJU Int*. 2018;121(5):716-24. DOI: [10.1111/bju.13983](https://doi.org/10.1111/bju.13983) PMID: [28796935](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28796935/)
31. van den Bos W, de Bruin DM, Muller BG, Varkarakis IM, Karagiannis AA, Zondervan PJ, et al. The safety and efficacy of irreversible electroporation for the ablation of prostate cancer: a multicentre prospective human in vivo pilot study protocol. *BMJ Open*. 2014;4(10):e006382. DOI: [10.1136/bmjopen-2014-006382](https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006382) PMID: [25354827](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25354827/)
32. Davalos RV, Bhonsle S, Neal RE. Implications and considerations of thermal effects when applying irreversible electroporation tissue ablation therapy. *Prostate*. 2015;75(10):1114-8. DOI: [10.1002/pros.22986](https://doi.org/10.1002/pros.22986) PMID: [25809014](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25809014/)
33. Campelo S, Valerio M, Ahmed HU, Hu Y, Arena SL, Neal RE, et al. An evaluation of irreversible electroporation thresholds in human prostate cancer and potential correlations to physiological measurements. *APL Bioeng*. 2017;1(1):016101. DOI: [10.1063/1.5005828](https://doi.org/10.1063/1.5005828) PMID: [31069281](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31069281/)
34. Wendler JJ, Pech M, Fischbach F, Jürgens J, Friebe B, Baumunk D, et al. Initial Assessment of the Efficacy of Irreversible Electroporation in the Focal Treatment of Localized Renal Cell Carcinoma With Delayed-interval Kidney Tumor Resection (Irreversible Electroporation of Kidney Tumors Before Partial Nephrectomy [IRENE] Trial-An Ablate-and-Resect Pilot Study). *Urology*. 2018;114:224-32. DOI: [10.1016/j.urology.2017.12.016](https://doi.org/10.1016/j.urology.2017.12.016) PMID: [29305201](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29305201/)
35. Buijs M, Zondervan PJ, de Bruin DM, van Lienden KP, Bex A, van Delden OM. Feasibility and safety of irreversible electroporation (IRE) in patients with small renal masses: results of a prospective study. *Urol Oncol*. 2019;37(3):183.e1-8. DOI: [10.1016/j.urolonc.2018.11.008](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2018.11.008) PMID: [30509869](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30509869/)
36. Scheffer HJ, Melenhorst MC, Echenique AM, Nielsen K, van Tilborg AA, van den Bos W, et al. Irreversible Electroporation for Colorectal Liver Metastases. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2015;18(3):159-69. DOI: [10.1053/j.tvir.2015.06.007](https://doi.org/10.1053/j.tvir.2015.06.007) PMID: [26365546](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26365546/)
37. Kos B, Voigt P, Miklavcic D, Moche M. Careful treatment planning enables safe ablation of liver tumors adjacent to major blood vessels by percutaneous irreversible electroporation (IRE). *Radiol Oncol*. 2015;49(3):234-41. DOI: [10.1515/raon-2015-0031](https://doi.org/10.1515/raon-2015-0031) PMID: [26401128](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26401128/)
38. Puijk RS, Ruars AH, Scheffer HJ, Vroomen LG, van Tilborg AA, de Vries JJ, et al. Percutaneous Liver Tumour Ablation: Image Guidance, Endpoint Assessment, and Quality Control. *Can Assoc Radiol J*. 2018;69(1):51-62. DOI: [10.1016/j.carj.2017.11.001](https://doi.org/10.1016/j.carj.2017.11.001) PMID: [29458955](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29458955/)
39. Verloh N, Jensch I, Lürken L, Haimerl M, Dollinger M, Renner P, et al. Similar complication rates for irreversible electroporation and thermal ablation in patients with hepatocellular tumors. *Radiol Oncol*. 2019;53(1):116-22. DOI: [10.2478/raon-2019-0011](https://doi.org/10.2478/raon-2019-0011) PMID: [30840591](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30840591/)
40. Cohen EI, Field D, Lynskey GE, Kim AY. Technology of irreversible electroporation and review of its clinical data on liver cancers. *Expert Rev Med Devices*. 2018;15(2):99-106. DOI: [10.1080/17434440.2018.1425612](https://doi.org/10.1080/17434440.2018.1425612) PMID: [29307242](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29307242/)
41. Cannon R, Ellis S, Hayes D, Narayanan G, Martin RC. Safety and early efficacy of irreversible electroporation for hepatic tumors in proximity to vital structures. *J Surg Oncol*. 2013;107(5):544-9. DOI: [10.1002/jso.23280](https://doi.org/10.1002/jso.23280) PMID: [23090720](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23090720/)
42. Stillström D, Beermann M, Engstrand J, Freedman J, Nilsson H. Initial experience with irreversible electroporation of liver tumours. *Eur J Radiol Open*. 2019;6:62-7. DOI: [10.1016/j.ejro.2019.01.004](https://doi.org/10.1016/j.ejro.2019.01.004) PMID: [30723754](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30723754/)
43. Leen E, Picard J, Stebbing J, Abel M, Dhillon T, Wasan H. Percutaneous irreversible electroporation with systemic treatment for locally advanced pancreatic adenocarcinoma. *J Gastrointest Oncol*. 2018;9(2):275-81. DOI: [10.21037/jgo.2018.01.14](https://doi.org/10.21037/jgo.2018.01.14) PMID: [29755766](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29755766/)

44. Narayanan G, Hosein PJ, Beulaygue IC, Froud T, Scheffer HJ, Venkat SR, et al. Percutaneous Image-Guided Irreversible Electroporation for the Treatment of Unresectable, Locally Advanced Pancreatic Adenocarcinoma. *J Vasc Interv Radiol*. 2017;28(3):342-8. DOI: [10.1016/j.jvir.2016.10.023](https://doi.org/10.1016/j.jvir.2016.10.023) PMID: [27993507](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27993507/)
45. Martin RC, Durham AN, Besselink MG, Iannitti D, Weiss MJ, Wolfgang CL, et al. Irreversible electroporation in locally advanced pancreatic cancer: A call for standardization of energy delivery. *J Surg Oncol*. 2016;114(7):865-71. DOI: [10.1002/jso.24404](https://doi.org/10.1002/jso.24404) PMID: [27546233](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27546233/)
46. Martin RC, Kwon D, Chalikhonda S, Sellers M, Kotz E, Scoggins C, et al. Treatment of 200 locally advanced (stage III) pancreatic adenocarcinoma patients with irreversible electroporation: safety and efficacy. *Ann Surg*. 2015;262(3):486-94. DOI: [10.1097/SLA.0000000000001441](https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001441) PMID: [26258317](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26258317/)
47. Ricke J, Jürgens JH, Deschamps F, Tselikas L, Uhde K, Kosiek O, et al. Irreversible electroporation (IRE) fails to demonstrate efficacy in a prospective multicenter phase II trial on lung malignancies: the ALICE trial. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2015;38(2):401-8. DOI: [10.1007/s00270-014-1049-0](https://doi.org/10.1007/s00270-014-1049-0) PMID: [25609208](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25609208/)
48. Usman M, Moore W, Talati R, Watkins K, Bilfinger TV. Irreversible electroporation of lung neoplasm: a case series. *Med Sci Monit*. 2012;18(6):CS43-7. DOI: [10.12659/MSM.882888](https://doi.org/10.12659/MSM.882888) PMID: [22648257](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22648257/)
49. Maor E, Sugrue A, Witt C, Vaidya VR, DeSimone CV, Asirvatham SJ, et al. Pulsed electric fields for cardiac ablation and beyond: A state-of-the-art review. *Heart Rhythm*. 2019;16(7):1112-20. DOI: [10.1016/j.hrthm.2019.01.012](https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2019.01.012) PMID: [30641148](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30641148/)
50. Maor E, Ivorra A, Leor J, Rubinsky B. The effect of irreversible electroporation on blood vessels. *Technol Cancer Res Treat*. 2007;6(4):307-12. DOI: [10.1177/153303460700600407](https://doi.org/10.1177/153303460700600407) PMID: [17668938](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17668938/)
51. Sutter O, Calvo J, N'Kontchou G, Nault JC, Ourabia R, Nahon P, et al. Safety and Efficacy of Irreversible Electroporation for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma Not Amenable to Thermal Ablation Techniques: A Retrospective Single-Center Case Series. *Radiology*. 2017;284(3):877-86. DOI: [10.1148/radiol.2017161413](https://doi.org/10.1148/radiol.2017161413) PMID: [28453431](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28453431/)
52. Ben-David E, Ahmed M, Faroja M, Moussa M, Wandel A, Sosna J, et al. Irreversible electroporation: treatment effect is susceptible to local environment and tissue properties. *Radiology*. 2013;269(3):738-47. DOI: [10.1148/radiol.13122590](https://doi.org/10.1148/radiol.13122590) PMID: [23847254](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23847254/)
53. Sano MB, Neal RE, Garcia PA, Gerber D, Robertson J, Davalos RV. Towards the creation of decellularized organ constructs using irreversible electroporation and active mechanical perfusion. *Biomed Eng Online*. 2010;9(1):83. DOI: [10.1186/1475-925X-9-83](https://doi.org/10.1186/1475-925X-9-83) PMID: [21143979](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21143979/)
54. Neal RE, Rossmesl JH, Robertson JL, Arena CB, Davis EM, Singh RN, et al. Improved local and systemic anti-tumor efficacy for irreversible electroporation in immunocompetent versus immunodeficient mice. *PLoS One*. 2013;8(5):e64559. DOI: [10.1371/journal.pone.0064559](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064559) PMID: [23717630](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23717630/)
55. Ringel-Scaia VM, Beitel-White N, Lorenzo MF, Brock RM, Huie KE, Coutermarsh-Ott S, et al. High-frequency irreversible electroporation is an effective tumor ablation strategy that induces immunologic cell death and promotes systemic anti-tumor immunity. *EBioMedicine*. 2019;44:112-25. DOI: [10.1016/j.ebiom.2019.05.036](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.05.036) PMID: [31130474](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31130474/)
56. Kranjc M, Bajd F, Serša I, Miklavčič D. Magnetic resonance electrical impedance tomography for measuring electrical conductivity during electroporation. *Physiol Meas*. 2014;35(6):985-96. DOI: [10.1088/0967-3334/35/6/985](https://doi.org/10.1088/0967-3334/35/6/985) PMID: [24844299](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24844299/)
57. Wang Y, Shao Q, Van de Moortele PF, Racila E, Liu J, Bischof J, et al. Mapping electrical properties heterogeneity of tumor using boundary informed electrical properties tomography (BIEPT) at 7T. *Magn Reson Med*. 2019;81(1):393-409. DOI: [10.1002/mrm.27414](https://doi.org/10.1002/mrm.27414) PMID: [30230603](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30230603/)
58. Ball C, Thomson KR, Kavnoudias H. Irreversible electroporation: a new challenge in "out of operating theater" anesthesia. *Anesth Analg*. 2010;110(5):1305-9. DOI: [10.1213/ANE.0b013e3181d27b30](https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e3181d27b30) PMID: [20142349](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20142349/)
59. Grošelj A, Kos B, Čemažar M, Urbančič J, Kragelj G, Bošnjak M, et al. Coupling treatment planning with navigation system: a new technological approach in treatment of head and neck tumors by electrochemotherapy. *Biomed Eng Online*. 2015;14:S2. DOI: [10.1186/1475-925X-14-S3-S2](https://doi.org/10.1186/1475-925X-14-S3-S2) PMID: [26355773](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26355773/)
60. Fuhrmann I, Probst U, Wiggermann P, Beyer L. Navigation Systems for Treatment Planning and Execution of Percutaneous Irreversible Electroporation. *Technol Cancer Res Treat*. 2018;14:S2. DOI: [10.1177/1533033818791792](https://doi.org/10.1177/1533033818791792) PMID: [30071779](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30071779/)
61. Beyer LP, Pregler B, Niessen C, Dollinger M, Graf BM, Müller M, et al. Robot-assisted microwave thermoablation of liver tumors: a single-center experience. *Int J CARS*. 2016;11(2):253-9. DOI: [10.1007/s11548-015-1286-y](https://doi.org/10.1007/s11548-015-1286-y) PMID: [26307269](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26307269/)
62. Witt C, Sugrue A, Padmanabhan D, Vaidya V, Gruba S, Rohl JP, et al. Intrapulmonary Vein Ablation Without Stenosis: A Novel Balloon-Based Direct Current Electroporation Approach. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(14):e009575. DOI: [10.1161/JAHA.118.009575](https://doi.org/10.1161/JAHA.118.009575) PMID: [29987121](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29987121/)
63. Miklavčič D, Snoj M, Županič A, Kos B, Čemažar M, Kropivnik M, et al. Towards treatment planning and treatment of deep-seated solid tumors by electrochemotherapy. *Biomed Eng Online*. 2010;9(1):10. DOI: [10.1186/1475-925X-9-10](https://doi.org/10.1186/1475-925X-9-10) PMID: [20178589](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20178589/)

64. Županič A, Kos B, Miklavčič D. Treatment planning of electroporation-based medical interventions: electrochemotherapy, gene electrotransfer and irreversible electroporation. *Phys Med Biol*. 2012;57(17):5425-40. DOI: [10.1088/0031-9155/57/17/5425](https://doi.org/10.1088/0031-9155/57/17/5425) PMID: [22864181](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22864181/)
65. Edd JF, Davalos RV. Mathematical modeling of irreversible electroporation for treatment planning. *Technol Cancer Res Treat*. 2007;6(4):275-86. DOI: [10.1177/153303460700600403](https://doi.org/10.1177/153303460700600403) PMID: [17668934](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17668934/)
66. Županič A, Miklavčič D. Optimization and Numerical Modeling in Irreversible Electroporation Treatment Planning. In: Rubinsky B. *Irreversible Electroporation*. Heidelberg: Berlin: Springer; 2010. pp. 203-22.
67. Gallinato O, de Senneville BD, Seror O, Poignard C. Numerical workflow of irreversible electroporation for deep-seated tumor. *Phys Med Biol*. 2019;64(5):055016. DOI: [10.1088/1361-6560/ab00c4](https://doi.org/10.1088/1361-6560/ab00c4) PMID: [30669121](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30669121/)
68. Barabasz A, Distelmaier M, Heil P, Krämer NA, Kuhl CK, Bruners P. Magnetic Resonance Imaging Findings After Percutaneous Irreversible Electroporation of Liver Metastases: A Systematic Longitudinal Study. *Invest Radiol*. 2017;52(1):23-9. DOI: [10.1097/RLI.0000000000000301](https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000301) PMID: [27379698](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27379698/)
69. Padia SA, Johnson GE, Yeung RS, Park JO, Hippe DS, Kogut MJ. Irreversible Electroporation in Patients with Hepatocellular Carcinoma: Immediate versus Delayed Findings at MR Imaging. *Radiology*. 2016;278(1):285-94. DOI: [10.1148/radiol.2015150031](https://doi.org/10.1148/radiol.2015150031) PMID: [26523493](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26523493/)
70. Kingham TP, Karkar AM, D'Angelica MI, Allen PJ, Dematteo RP, Getrajdman GI, et al. Ablation of perivascular hepatic malignant tumors with irreversible electroporation. *J Am Coll Surg*. 2012;215(3):379-87. DOI: [10.1016/j.jamcollsurg.2012.04.029](https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2012.04.029) PMID: [22704820](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22704820/)
71. Dunki-Jacobs EM, Philips P, Martin RC. Evaluation of resistance as a measure of successful tumor ablation during irreversible electroporation of the pancreas. *J Am Coll Surg*. 2014;218(2):179-87. DOI: [10.1016/j.jamcollsurg.2013.10.013](https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2013.10.013) PMID: [24315888](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24315888/)
72. Ben-David E, Appelbaum L, Sosna J, Nissenbaum I, Goldberg SN. Characterization of irreversible electroporation ablation in in vivo porcine liver. *AJR Am J Roentgenol*. 2012;198(1):W62-8. DOI: [10.2214/AJR.11.6940](https://doi.org/10.2214/AJR.11.6940) PMID: [22194517](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22194517/)
73. O'Brien TJ, Bonakdar M, Bhonsle S, Neal RE, Aardema CH, Robertson JL, et al. Effects of internal electrode cooling on irreversible electroporation using a perfused organ model. *Int J Hyperthermia*. 2018;35(1):44-55. DOI: [10.1080/02656736.2018.1473893](https://doi.org/10.1080/02656736.2018.1473893) PMID: [29806513](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29806513/)
74. Ruarus AH, Vroomen LG, Puijk RS, Scheffer HJ, Faes TJ, Meijerink MR. Conductivity Rise During Irreversible Electroporation: True Permeabilization or Heat? *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2018;41(8):1257-66. DOI: [10.1007/s00270-018-1971-7](https://doi.org/10.1007/s00270-018-1971-7) PMID: [29687261](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29687261/)
75. Mir LM, Gehl J, Sersa G, Collins CG, Garbay JR, Billard V, et al. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes. *Eur J Cancer, Suppl*. 2006;4(11):14-25. DOI: [10.1016/j.ejcsup.2006.08.003](https://doi.org/10.1016/j.ejcsup.2006.08.003)
76. Gehl J, Sersa G, Matthiessen LW, Muir T, Soden D, Occhini A, et al. Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. *Acta Oncol*. 2018;57(7):874-82. DOI: [10.1080/0284186X.2018.1454602](https://doi.org/10.1080/0284186X.2018.1454602) PMID: [29577784](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29577784/)